Beiträge zur Frage der luteotrophen Wirkung der gonadotropen Wirkstoffe

Der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen
als
Habilitationschrift

vorgelegt von
Karl Heinz Reiher
Erlangen

1950 № 15

Aus der Universitäts-Frauenklinik Erlangen
Direktor: Prof. Dr. med. R. Dyroff

Beiträge zur Frage der luteotrophen Wirkung der gonadotropen Wirkstoffe

Der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen
als
Habilitationschrift

vorgelegt von
Karl Heinz Reiher
Erlangen

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548806_0010

Inhaltsverzeichnis

Einführung und Fragestellung 1
Einteilung der gonadotropen Wirkstoffe 3
Wirkung der hypophysären Gonadotropine 5
Das follikelstimulierende Hormon 5
Das Luteinisierungshormon 5
Das luteotrophe Hormon 6
Die hormonale Regulation zwischen dem Hypophysen-Hypothalamus-System und dem Gonaden 7
Die anatomischen Theorien über die Beziehung zwischen Hypophyse und Hypothalamus 8
Die hormonelle Verknüpfungstheorie 8
Die nervöse Verknüpfungstheorie 9
Die neurovaskuläre Verknüpfungstheorie 9
Ergebnisse von Transplantionsversuchen 13
Der Einfluß der Ovarialsteroide auf die Produktion von gonadotropen Wirkstoffen im HVL 15
Der Einfluß nervöser Reize auf die LTH Produktion im HVL 16
Lokalisation der Gonadotropinproduktion im HVL 18
Chemische, physikalisch-chemische und biologische Eigenschaften der Gonadotropine 20
Chemische Merkmale 20
Physikalisch-chemische Angaben 20
Biologische Eigenschaften 21
Der luteotrophe Faktor der Adenohypophyse 23
Chemische Angaben 23
Physikalisch-chemische Daten 23
Einfluß auf enzymatische Reaktionen 24
Biologische Eigenschaften (Tierexperiment) 24
Biologische Eigenschaften (am Menschen) 27
Die luteotrophe Wirkung des Choriongonadotropins (HCG) 29
Die luteotrophe Wirkung der Plazenta 29
Biologische Bestimmungsmethoden 32
Zusammenfassung 32

Experimentelle Untersuchungen

I. Teil

1. Die Frage der Lokalisation der LTH-Produktion . . . 33
   Fragestellung und Problematik 33
   Arbeitsmethode 35
   Auswahl der Tiere, Voraussetzungen 35
   Funktionszustand der Tiere 36
   Cyklusbestimmung am Tier 36
   Chemische Aufarbeitung des Gewebes 37
   Die biologischen Auswertungsmethoden 37
   Der Taubenkropftest 37
   Die Originalmethode 38
   Die Methode der minimalen Stimulierung 38
   Die Methode der lokalen Stimulierung 38
   Der mitotische Index des Kropfepithels 39
   Die Bestimmung der sudanophilen Zellen 39
   Bestimmung des Phosphorgehaltes des Kropfes 39
   Der Säugetiertest 40
   Allgemeines zur methodischen Durchführung 40
   Ergebnisse 41
   Zusammenfassung 42

2. Das Verhalten der LTH-Aktivität der Leber nach Stimulation mit Östrogenen 43
   Fragestellung und Begründung der Versuchsanordnung 43
   Stimulierung des HVL mit östrogenen Substanzen . . 43
   Arbeitsmethode 44
   Ergebnisse 45
   Zusammenfassung 45

3. Der Einfluss der Hypophysektomie auf die LTH-Aktivität der Leber 46
Operative Technik 46
Arbeitsmethode 48
Ergebnisse 48
Zusammenfassung 50

II. T e i l

4. Die Frage der LTH-Produktion in der Plazenta . . . 51
Grundsätzliches zur gonadotropen Funktion der Plazenta 51
Luteotrophe und mammotrophe Effekte der Plazenta 51
Versuchsanordnung 55
Arbeitsmethode 55
Hypophysektomie am 8. Schwangerschaftstag 55
Hypophysektomie am 12. Schwangerschaftstag 56
Ergebnisse 57
Kontrolle an graviden, nicht hypophysektomierten Tieren 57
Diskussion 57
Zusammenfassung 59

III. T e i l

5. Die Frage der "luteotrophen Wirkung" des Choriongonadotropins (HCG) 61
Allgemeines über das HCG, Vorkommen, chemische und physiologische Angaben 61
Fragestellung 65
Arbeitsmethode (Untersuchungen am hypophysektomierten Tier) 65
Ergebnisse der histologischen Auswertung des Deziduomtestes 67

Abstrichkontrolle aus dem Zellbild der Vagina . . . 67
Histologische Reaktion des Epithels der Brustdrüse 67
Diskussion 67
Methodisches zum Deziduomtest 69
Zusammenfassung 69

6. Untersuchungen der luteotrophen Wirkung des HCG am nicht-hypophysektomierten Tier 70
Übersicht und Fragestellung 70
Arbeitsmethode 71
Vorbehandlung 71
Operation und Nachbehandlung 72
Ergebnisse 72
Makroskopische Veränderungen 72
Mikroskopische Veränderungen 72
Veränderungen am Epithel der Brustdrüse 73
Veränderungen im Zellbild der Vagina 73
Diskussion 73
Zusammenfassung 74

7. Nachweis der indirekten, luteotrophen Wirkung des HCG durch biologische Progesteron-Aktivität im Hooker-Forbes-Test 75
Arbeitsmethode 75
Auswahl der Tiere 75
Vorbehandlung 75
Pseudogravidität und Corpus-luteum-Aktivität . . . 75
Chemische Aufarbeitung des Blutes zur Darstellung von Progesteron 77
Biologischer Progestrinnachweis im "Hooker-Forbes-Test 78
Spezifität des Hooker-Forbes-Testes 78
Technik des Hooker-Forbes-Testes 79
Eigene Modifikation der Operationstechnik des Hooker-Forbes-Testes 80
Histologische Bearbeitung des Materials 82
Auswertung des Testes 83

Grundsätzliche Voraussetzungen 83
Histologische Kriterien des negativen Testergebnisses 83
Histologische Kriterien des positiven Testergebnisses 83
Einfluss der Östrogene auf die Reaktion 84
Einfluss der Androgene auf die Reaktion 85
Zusammenfassung 85
Bestimmung der geringsten wirksamen Menge 86

8. Biologische Progesteronbestimmung im Kaninchenblut nach kurzdauernder Vorbehandlung mit HCG 87
Ergebnisse 87
Zusammenfassung 88

9. Biologische Progesteronbestimmung im Kaninchenblut nach mehrtägiger Vorbehandlung mit HCG 88
Ergebnisse 89
Diskussion 89

10. Biologischer Nachweis von Progesteron im Kaninchenblut nach Vorbehandlung mit HCG und LTH 90
Arbeitsmethode und Vorbehandlung 91
Ergebnisse 91
Diskussion 91

11. Untersuchungen der HCG-Wirkung am Epithel der Brustdrüse 93
Allgemeines über die Beziehungen der Ovarialhormone zum Brustdrüsenepithel 93
Fragestellung und Versuchsansatz 98
Arbeitsmethode 98
Ergebnisse 99
Vorbehandlung mit Östrogenen, Progesteron und HCG an ovar- und hypophysektomierten Tieren 99
Ergebnisse 100
Arbeitsmehtode 100

Vorbehandlung mit Östrogenen, Progesteron bei hypophysektomierten Tieren mit intakten Ovarien. Nachbehandlung mit LTH 100
Ergebnisse 101
Diskussion 102

IV. T e i l

Zusammenfassende Besprechung der Ergebnisse 104
Die Frage der extrahypophysären Produktion von LTH (Leber) 104
Die Frage der LTH-Bildung in der Plazenta 108
Die Frage der gonadotropen Aktivität der Hypophyse während der Gravidität 110
Die Frage des zellulären Bildungsortes des LTH . . . 111
Die Frage nach dem Wirkungsmechanismus des "luteotrophen Effektes" des HCG 114
Die Frage der "luteotrophen Wirkung" des HCG, kontrolliert am mammotropen Effekt des LTH 119
Die Frage des luteotrophen Faktors im Cyklus 120
Der funktionelle Antagonismus zwischen LTH und FSH . 126
Die luteotrophen Vorgänge in der Schwangerschaft . . 129
Pathologische Störungen im luteotrophen System . . . 130
Die Wirkung östrogener Substanzen auf die luteotrophe Wirkung beim Menschen 132
Die Frage des "luteotrophen Effektes" des HCG beim Menschen 133
Die hormonalen Funktionen bei der Pseudogravidität des Menschen 135
Die gonadotrope Bedeutung des HCG beim Mann 136
Die Frage der Artspezifität der Gonadotropine . . . 136
Schlußbetrachtung 137

V. T e i l

Thesenmäßige Zusammenfassung 139

E i n f ü h r u n g

Ein Überblick über die physiologischen Aufgaben des luteotrophen Hormons (LTH) der Hypophyse zeigt, daß noch viele Fragen ungeklärt sind.

Die Untersuchungen der nachfolgenden Arbeit sollen einen Beitrag liefern zur Aufklärung einiger dieser offenen Fragen.

Der Inhalt der Arbeit erstreckt sich zunächst auf Fragen, die das luteotrophe Hormon (LTH) betreffen. Die Bedeutung dieses gonadotropen Wirkstoffes ist noch relativ wenig aufgeklärt und wird besonders wegen seiner "duotropen" Effekte mit Zurückhaltung beurteilt. Nach den bisher vorliegenden Untersuchungen besteht jedoch kaum Zweifel daran, daß LTH auf der einen Seite einen luteotrophen und auf der anderen Seite einen mammotropen Effekt hat. Fast alle bisher vorliegenden Ergebnisse gehen auf tierexperimentelle Beobachtungen zurück. Uneinheitliche Ergebnisse, die offensichtlich auf methodischen Abweichungen beruhen, divergierende Resultate unter einzelnen Tierspezies, und der Mangel an Beobachtungen am Menschen dürften für die reservierte Beurteilung verantwortlich sein, die man dem einen oder anderen Ergebnis entgegenbringt. Nicht zuletzt findet hier die berechtigte Überlegung Anwendung, daß die Beobachtungen am Tier nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse beim Menschen übertragen werden können.

Im ersten Teil der Arbeit wird die bisher nicht geklärte Frage nach dem Bildungsort des LTH untersucht. Eine hypophysäre Bildung wird zwar allgemein angenommen, eine daneben vorhandene, extrahypophysäre Produktion, besonders in der Leber, aber für möglich erachtet.

Diese Frage wurde mit Hilfe biochemischer Darstellungsmethoden und biologischer Testierung untersucht und beantwortet.

Der zweite Teil erstreckt sich auf Untersuchungen der Plazenta mit der Fragestellung, ob hier neben der Hypophyse

eine Produktion von LTH stattfindet.
Nach der heute geltenden Lehrmeinung wird der Plazenta die Fähigkeit einer eigenen LTH-Produktion zugeschrieben. Wir haben diese Frage eingehend überprüft, da u.E. der biologische Nachweis von LTH im Plazentagewebe nicht identisch sein muß mit einer eigenen Produktion.

Der dritte Teil der Arbeit bezieht sich auf Untersuchungen über den "luteotrophen Effekt" des Choriongonadotropins (HCG). LTH und HCG erfüllen im Organismus gonadotrope Aufgaben, die in ihrem Wirkungsbereich nicht sehr weit auseinander liegen. Dem HCG wird eine dem Luteinisierungshormon (ICSH) der Hypophyse vergleichbare luteinisierende Wirkung und außerdem ein luteotroper Effekt zugeschrieben, ohne daß bisher geklärt werden konnte, ob das HCG einen direkten luteotrophen Effekt hat, oder ob es indirekt luteotroph wirksam ist.

Die Untersuchungen wurden tierexperimentell, nach chemischer Aufarbeitung von Gewebshomogenaten bzw. Blut an speziellen biologischen Auswertungsverfahren, die zum Teil nach eigenen Erfahrungen modifiziert wurden, durchgeführt.
Die folgenden, bisher nicht geklärten Fragen wurden untersucht.

1.) Ist die Produktion des luteotrophen Hormons (LTH) auf die Hypophyse beschränkt, oder findet außerhalb eine extrahypophysäre Bildung von LTH statt?
2.) Hat das Choriongonadotropin (HCG) einen direkten oder indirekten luteotrophen Effekt?

In einem kurzen Überblick möchten wir die heutigen Erkenntnisse über die gonadotropen Funktionen der Adeno-Hypophyse zusammengefaßt darstellen und dabei im Interesse der eigenen Mitteilungen auf die luteotrophe Wirkung der Gonadotropine genauer und ausführlicher eingehen.

Zur Physiologie der gonadotropen Hormone

Bei den im Organismus ablaufenden gonadotropen Funktionen nimmt die Adenohypophyse eine zentrale Stellung ein. Mit Hilfe von 3 gonadotropen Wirkstoffen steuert sie die generativen

Funktionen, wobei die Steroidhormone des Ovars in genau abgestimmter Wechselbeziehung in diese Regulationen eingreifen.

Einteilung der gonadotropen Wirkstoffe

Unter dem Begriff "gonadotrope Hormone" sind z w e i Wirkstoffgruppen zusammengefaßt, die sich nach Ursprungsort und chemisch-physikalischen Eigenschaften unterscheiden, in ihrer Wirkung jedoch ähnliche "trope" Effekte auf die Funktion der Keimdrüsen ausüben.
Es sind zu unterscheiden:

1. Die gonadotropen Hormone der Adenohypophyse bzw. die hypophysären Gonadotropine und
2. die nicht hypophysären Gonadotropine.

Die heute üblichen Bezeichnungen und Abkürzungen der hypophysären Gonadotropine sind der folgenden Zusammenstellung zu entnehmen.

Gonadotropine der Adenohypophyse.
Hypophysäre Gonadotropine.

International gebräuchliche Abkürzungen	Bezeichnung	Synonyme
FSH	Follikelstimulierendes Hormon follicle stimulating hormone.	Follikelreifungshormon. Prolan A Gonadotropin I. Thylakentrin. Gametogenes Hormon.
ICSH	Interstitialzellenstimulierendes Hormon. interstitial cell stimulating hormone.	Luteinisierungshormon. Prolan B. Gonadotropin II. Metakentrin. Interstitiumfaktor. Luteotropes H. +)

International gebräuchliche Abkürzungen	Bezeichnung	Synonyme
LTH	Luteotrophes bzw. luteotropes Hormon	Luteotropin. Prolactin. Gonadotropin III. Mammotropin. Galactin. Lactogenes Hormon. Luteo-mammotropin. ++) Proletan. +++)

+) Dyroff schlägt vor, das ICSH als luteotropes Hormon und das LTH als luteotrophes Hormon zu bezeichnen, weil auf diese Weise die funktionellen Eigenschaften charakterisiert werden.

++) Um den "Duotropismus" des Faktors LTH zum Ausdruck zu bringen, der zwei Erfolgsorgane, die Mamma und das Corpus luteum hat, wird auch die Bezeichnung luteo-mammotropes Hormon bzw. Luteo-Mammotropin vorgeschlagen, wobei sich sinngemäß die Abkürzung LMTH ergeben würde (418).

+++) Nach einem Vorschlag von Voss (402).

Die nicht hypophysären Gonadotropine sind in der folgenden Zusammenstellung dargestellt.

Nicht hypophysäre Gonadotropine

International gebräuchliche Abkürzungen	Bezeichnung	Synonyme	Bildungsstätte
HCG +)	Choriongonadotropes Hormon. Choriongonadotropin. human chorionic gonadotrophin.	Plazentagonadotropin. pregnancy urine Hormone. anterior pituitary like hormone.	Trophoblastenmaterial. Choriales Gewebe.
PMS	Serumgonadotropin trächtiger Stuten. pregnant mare serum.	Serumgonadotropin. equine gonadotrophin.	Endometrium. Zellen des Chorions.
HMG	Menopausengonadotropin. hum an menopause gonadotropin.	castration gonadotropin.	Hypophysenvorderlappen.

+) In dieser Gruppe müssen die Hormone, die in Tumoren mit chorionähnlichem Gewebe produziert werden (Chorionepitheliom, Hodenteratom) ebenfalls eingeordnet werden. Sie stellen keine besondere Gruppe gonadotroper Wirkstoffe dar.

Wirkung der hypophysären Gonadotropine

Die gonadotropen Wirkstoffe der Adenohypophyse sind:

1. Das follikelstimulierende Hormon (FSH), (Synonyme s. S.3), ein Glukoproteid mit einem Molekulargewicht von ungefähr 70 000. Es bewirkt die Entwicklung der Follikel im Ovar. Nach neueren Ansichten (178, 222) soll das FSH weniger auf die Granulosa-, als auf die Thekazellen wachstumsfördernd einwirken, ohne zunächst jedoch eine Produktion von östrogenen Substanzen verursachen zu können. Diese setzt erst in der Theka unter Mitwirkung des zweiten gonadotropen Faktors, des ICSH ein, wirkt dann per continuitatem auf die Granulosazellen. Unter gemeinsamer Wirkung von FSH und ICSH und wahrscheinlich einem ovariellen Androgen kommt es zur Ausbildung der Follikelhöhle. Demnach wirkt FSH allein nicht funktionell (=hormonbildend), sondern strukturell-histotrop durch einen Proliferationsreiz auf die Zellen der Theka. Auf diese Weise kommt es zur Ausbildung der Graaf'schen Follikel, die den Ausgangspunkt der gametogenen, östrogenen und progestiven Funktionen, die unter der gonadotropen Steuerung des Hypophysenvorderlappens (HVL) nach bestimmten Regeln ablaufen, darstellen.

2. Das Luteinisierungshormon (ICSH) der Hypophyse (Synonyme s. S.3), welches je nach Ausgangsgewebe (Hypophysen von Schafen oder Rindern) unterschiedliche Molekulargewichte aufweist (40 000 bzw. 100 000). ICSH ist wie FSH ein Glykoproteid. Es fördert im Ovar die Entwicklung des interstitiellen Gewebes. ICSH hat einen luteinisierenden Effekt, d.h. es verursacht die Umwandlung des interstitiellen Gewebes bzw. der Granulosa- und Thekazellen des Ovars in Luteinzellen, ohne daß es zur Bildung von Gelbkörperhormon kommt. Erst unter gemeinsamer Einwirkung von FSH und ICSH

kommt es zur Östrogenbildung in den Thekazellen, während die ovarielle Androgenbildung wohl ausschließlich auf das ICSH zurückgeht. Die Ovulation schließlich ist das Ergebnis des Zusammenwirkens von FSH, ICSH, den Ovarialsteroiden einschließlich eines Androgens.

3. Das luteotrophe Hormon (LTH) der Hypophyse (Synonyme s. S.4), welches im Unterschied zu FSH und ICSH ein Proteinkörper ohne Kohlehydratanteile im Molekulargewicht von mindestens 33 300 darstellt, hat einen "duotropen" Effekt.

   a) Einen mammotropen Effekt auf die Entwicklung und die Funktion der Brustdrüse, demnach eine mammotrope und lactogene Wirkung. Der mammotrope Effekt beruht auf einer nicht ganz geklärten, gemeinsamen histotropen Wirkung mit den Ovarialsteroiden, wobei die Beteiligung der einzelnen Stoffe ein mehr quantitatives Dosisproblem zu sein scheint. Der sog. "Lactogene Komplex" d.h. die erforderlichen hormonellen Funktionen zur Auslösung, Funktion, sowie Erhaltung der Lactation ist noch weitgehend ungeklärt.

   b) Einen luteotrophen Effekt d.h. LTH wirkt auf das durch FSH aufgebaute und durch ICSH luteinisierte Gewebe luteotroph, d.h. es löst die Synthese und aktive Sekretion von Gelbkörperhormon (Progesteron) aus. Das Luteingewebe wird zur Funktion angeregt, es kann unter dem Einfluß von LTH gestagene Substanzen produzieren.

Die 3 gonadotropen Wirkstoffe (FSH, ICSH, LTH) steuern in Verbindung mit den ovariellen Steroiden (Östrogen, Progesteron, Androgen) gemeinsam die cyklischen Ovarialfunktionen in einer auf gegenseitiger Wechselbeziehung aufbauenden Form.

Außer den drei erwähnten gonadotropen Hormone produziert der HVL mindestens drei weitere Wirkstoffe. Das Wachstumshormon (STH), das von einem bestimmten Entwicklungs-

stadium ab für das Wachstum des Organismus erforderlich sein soll, das adrenocorticotrope Hormon (ACTH), das die Trophik der Nebennierenrinde stimuliert, sowie Thyreotropin (TSH), welches die Funktion der Schilddrüsse anregt. Für die Nebennierenrinde und die Schilddrüse ist bekannt, daß sie auch ohne die Hypophyse auf einer herabgesetzten Leistungsstufe weiter zu arbeiten vermögen. Dagegen ist eine Funktion der Gonaden ohne hypophysäre Stimulierung nicht möglich. Die Beziehung der Hypophyse zu den Keimdrüsen scheint also enger zu sein, als deren übrigen endokrine Korrelationen.

Die hormonelle Regulation zwischen dem Hypophysen-Hypothalamus-System und den Gonaden.

Früher räumte man der Hypophyse eine absolute selbstregulatorische, den übrigen innersekretorischen Vorgängen im Organismus übergeordnete Steuerfunktion ein. Heute ist bekannt, daß über bestimmte, nervöse Leitungsbahnen und über das sog. hypophysäre "Pfortadersystem" anatomisch und funktionell enge Beziehungen zur Hypothalamusregion bestehen. Damit tritt neben die hormonelle Steuerung eine vom Zentralnervensystem ausgehende nervöse, die, wie man den Eindruck hat, mit zunehmender Differenzierung (Organisationshöhe) des Organismus mehr und mehr an Bedeutung gewinnt. Der Hirnteil, der die nervöse Steuerung übernimmt, liegt der Hypophyse benachbart und wird mit Spatz "hypothalamisches Sexualzentrum" bezeichnet. Beide Steuerorgane beeinflussen sich gegenseitig. Man wird daher der eigentlichen Bedeutung mehr gerecht, die Hypophyse nicht als isoliertes Organ, sondern das Hypophysen-Hypothalamus-System als eine funktionell zusammengehörende Einheit zu betrachten.

Die anatomischen Theorien über die Beziehung zwischen Hypophyse und Hypothalamus.

Die funktionellen Beziehungen zwischen der Hypophyse und dem Hypothalamus sind in verschiedenen Theorien zu erklären versucht worden. Man unterscheidet a) hormonelle, b) nervöse und c) vaskuläre Verknüpfungstheorien.

a) Die hormonelle Verknüpfungstheorie geht von der Annahme eines zentripetalen Hormonstromes von der Hypophyse zum Hypothalamus aus. Collin (106) hat diese Lehre (Neurokrinie) besonders ausgebaut. In Zusammenhang mit der Lehre einer afferent-hormonalen Verknüpfung wurde später die Bedeutung der basophilen Einwanderungszellen der Zwischenzone in den Hypophysenhinterlappen (HHL) im Sinne einer Sekretion endokrinen Epithels im Nervengewebe diskutiert (132), ohne daß bisher ihre Bedeutung aufgeklärt werden konnte.
Eine andere Theorie geht von der Annahme einer Zwischenhirndrüse aus, die in einem zentrifugalen Hormonstrom (Neurosekretion) ihr Sekret in die Hypophyse transportiert (22). Hinsichtlich der Produktion der Hinterlappenhormone hat diese Theorie allgemein Anerkennung gefunden. Über die Art der Sekretabgabe gehen die Meinungen jedoch noch auseinander. Gestützt wird diese Lehre durch die Beobachtung, daß nach Hypophysektomie der Gehalt an oxytotischen Stoffen im Diencephalon und Truber cinerium ansteigt (371). Unter dieser Voraussetzung würde der HHL seine Bedeutung als Drüse mit innerer Sekretion praktisch verloren haben und nur noch eine Art Depot für die im Hypothalamus produzierten Wirkstoffe darstellen. Für den einheitlichen Transport soll einerseits die Blutbahn und andererseits der Liquor in Betracht kommen (Hydrenzephalokrinie). Ähnliche Vorgänge wurden auch für die Adenohypophyse diskutiert. Die ungleich komplizierteren anatomischen Verhältnisse und die negativen Ergebnisse histochemischer Nachweisreaktionen erlauben nicht für den HVL das gleiche Verhalten anzunehmen.

b) In der Annahme einer nervösen Verknüpfung zwischen Hypophyse und Hypothalamus werden zwei morphologisch und physiologisch verschiedene Systeme unterschieden. Der Tractus supraopticus-hypophyseus als neurosekretorische Leitungsbahn und das wesentlich kompliziertere System, welches aus dem Tuber cinerium, dem an der äußeren Zone des Infundibulum endigenden Tractus tubero-hypophyseus der Pars infundibularis adenohypophyseus und dem Vorderlappen besteht. Wie die Glieder dieser Kette miteinander verbunden sind, ist noch nicht aufgeklärt (376). Es wird angenommen, daß das Tuber cinerium eine Art Sexualzentrum darstellt (21, 58, 183, 185, 199, 414), wo eine Umschaltung nervöser Reize vom Großhirn und vegetativem Nervensystem in Impulse zur Hormonproduktion im HVL stattfindet. Nach Westmann (173, 174) kann dieses Sexualzentrum durch seine Reagibilität auf Keimdrüsenhormone auf diesem Wege einen Einfluß auf die Funktion des HVL entsprechend der jeweiligen hormonalen Gegebenheiten ausüben. Dabei soll das Tuber cinerium nicht etwa die Bedeutung eines autonomen Zentrums haben, sondern mehr eine vorgelagerte Schaltstelle mit regulativem Einfluß auf den HVL darstellen.
Zahlreiche experimentelle Erfahrungen sprechen für einen Einfluß des Hypothalamus auf die Tätigkeit der Adenohypophyse über den Weg einer Steuerung der Drüsentätigkeit durch die infundibulären Nervenfasern. Aufgrund anatomischer Gegebenheiten läßt sich diese Theorie jedoch nicht stützen, da eine nenneswerte topographische Beziehung dieser Fasern zur Adenohypophyse nicht nachzuweisen ist.

c) Harris (178) versucht die Annahme einer über das Infundibulum ablaufenden efferenten Steuerung der Kette mit den anatomischen Gegebenheiten in Einklang zu bringen. Danach sollen die Nervengeflechte der infundibulären Gefäßschlingen die hypothalamischen Impulse

übermitteln. Es wird angenommen, daß an den Nervenendigungen bestimmte Aktionssubstanzen freigesetzt werden, die nach Resorption von den Gefäßen über das sog. Pfortadersystem des Hapophysenstieles in die Adenohypophyse transportiert werden. Die Bedeutung des sog. hypothalamisch-hypophysären-portalen Gefäßsystems für die Übermittlung der diencephalen Impulse bleibt nicht unwidersprochen (444, 290, 304). Zahlreiche Untersucher sprechen sich für die Annahme einer Neurosekretionslehre (429, 172, 12, 28, 29) im Sinne von Harris (178) aus, ohne daß bisher nähere Einzelheiten über die stoffliche Natur der Überträgersubstanz bekannt wurden. Neben verschiedenen indirekten Beweisen für den Transport von Stoffen aus dem Hypothalamus, welche die Hypophyse zur Ausschüttung hormonaler Wirkstoffe stimulieren sollen, sind u.E. auch die von Porter und Jones mitgeteilten Ergebnisse (317) bei objektiver Kritik nicht als sicherer Beweis dafür anzusehen, daß eine diencephale Produktion "ACTH aktiver Substanzen" stattfindet. Die genannten Untersucher konnten mit Hilfe einer speziellen Technik im Blut aus den hypothalamischen, portalen Gefäßen eine deutliche ACTH-Aktivität nachweisen. Abgesehen von der methodischen Schwierigkeit und den zwangsläufig damit verbundenen Unsicherheitsfaktoren ist u.E. die Möglichkeit eines umgekehrten Transportes, d.h. von der Adenohypophyse zum Hypothalamus mit der angegebenen Methode nicht auszuschließen.

Man könnte versucht sein, in dem von Bargmann (22) angenommenen Neurosekret, das als zentrifugaler Hormonstrom der Adenohypophyse zufließen soll, einen Ausdruck der von Harris (178) diskutierten Aktionssubstanzen sehen zu wollen. Diese Vermutung ist jedoch nach den Ergebnissen der Chrom-Hämatoxylin-Phloxin-(CHP)-Färbung nach Gomori (160) unwahrscheinlich. Mit Hilfe dieser Methode konnten durch elektive Anfärbung Sekretgranula in den Zellen der Nuclei supraoptici und paraventricularis und eine von hier ausgehende neurosekretotische Bahn bis zu den Nervenendigungen im HHL dargestellt werden. Das CHP-positive Neurosekret, ein hoch-

molekularer Glykolipoproteinkomplex (349) ist mit den Hormonen des HHL nicht identisch, sondern wird lediglich als deren Trägersubstanz angesehen (184). Es gilt als erwiesen (375), daß die feinen Nervengeflechte um die Gefäße des Infundibulum und an der extrasellären adeno-neurohypophysären Kontaktfläche CHP-negativ bleiben, das Neurosekret demnach keine Beziehung zum HVL hat.

Wenn wir alle bisherigen klinischen und physiologischen Ergebnisse berücksichtigen, ist festzustellen, daß die Frage, ob eine direkte Steuerung des HVL durch den Hypothalamus erfolgt, nicht sicher entschieden ist. Bei der Verbindung zwischen HVL und Hypothalamus über das periphere vegetative Netz wird von Zacharias (438) angenommen, daß nicht nur eine sympathische Innervation über das System des Halsgrenzstranges, sondern auch ein parasympathisches besteht, die in einer centrifugalen Form vom Nucleus salivatorius der Brücke ausgeht und über den Nervus intermedius und das Vidiansche Ganglion zur Hypophyse gelangt. Ob diese Bahnen eine ausreichende Erklärung für die Beziehung Hypothalamus-HVL erlauben, wäre noch durch entsprechende Untersuchungen zu klären. Stellt man diese Bahnen in den Mittelpunkt der Betrachtung und würde ihnen eine besondere funktionelle Bedeutung zumessen, wäre dies nur möglich unter gleichzeitiger Vernachlässigung der Gefäß- und Nervenstrukturen der extrasellären Hypophyse. Hier vermittelt eine Hypothese von Spatz (375), indem in der proximalen Hypophyse d.h. in dem CHP-negativen Anteil derselben ein rezeptorisches Organ angenommen wird. Nach dieser Hypothese beeinflußt nicht der Hypothalamus den HVL, sondern der HVL soll auf die Tätigkeit des Zentralorgans einwirken, in der Annahme, daß über die adenoneurohypophysäre Kontaktfläche die im HVL bestehenden hormonellen Gegebenheiten den aus dem Hypothalamus stammenden Nervenendigungen, die als Chemorezeptoren dienen, vermittelt werden. Im Vergleich zur oben erwähnten vegetativen, auf centrifugalem Weg erfolgten Beeinflussung, liegt dieser Hypothese ein centripedaler Weg zugrunde.
Gegenüber der afferent-nervösen Verknüpfungstheorie von Popa und Fielding (316) finden sich demnach keine grundsätzlichen Abweichungen.

Nach der Spatz'schen Lehre wären zwei, anatomisch unterscheidbare Systeme denkbar:

a) Ein efferent, hormonelles, neurosekretorisches System in Anlehnung an die Theorie von Bargmann (22). Dieses System soll der Produktion der Hypophysenhinterlappenhormone dienen.
b) Ein kapillar-nervöses, afferentes System, dem die Koordination der generativen Funktionen zugeschrieben wird.

Die anatomische Verflechtung der beiden Systeme zeigt eine dem Differenzierungsgrad des Organismus parallelgehende hohe Entwicklung, um beim Menschen die höchste Stufe zu erreichen. Es wird für möglich erachtet, daß sowohl das Produkt der Neurosekretion als auch die hormonellen Wirkstoffe des HVL in einer Art afferent-hormonalem Weg über den Recessus infundibularis in den Liquor und auf diesem Weg in das Gehirn kommen. Im Gegensatz zu der heute so sehr propagierten Auffassung von der Neurosekretion (Bargmann, Scharrer) weist K.F. Bauer (445) aufgrund histogenetischer Vorgänge, experimenteller Untersuchungen mit Vitalfärbungen und der Tatsache, daß in der Neurohypophyse aktive Drüsenzellen aus dem Zwischenhirn liegen, auf die Möglichkeit einer Neuroresorption hin. Danach wäre die Neurohypophyse als ein Organ anzusehen, das resorbierende Funktionen hat und Inkrete aus der Adenohypophyse aufnimmt um sie in das Zwischenhirn weiter zu leiten.
Nach K.F. Bauer können die Stofftransporte entlang der Axone aus dem Hypothalamus in die Neurohypophyse, wie sie im Sinne der Neurosekretion angenommen werden (Bargmann) ebensogut als Stadien einer in umgekehrter Richtung ablaufenden Stoffbewegung, d.h. als ein Transport in Richtung Hypothalamus gedeutet werden. Nach den Ergebnissen von K.F. Bauer (445) erscheint es in der Tat fraglich, daß die Verdickung der Läsionstelle und der proximalen Abschnitte der neurosekretorischen Neurone des Nucleus supraopticus und paraventricularis nach Durchschneidung auf einer Anreicherung von Neurosekret beruhen. Unter Hinweis auf die hier nicht ausreichend spezifische Reaktion der Gomori-Färbung und den physiologischen Vorgang, daß die Durchtrennung eines Leitungsweges für flüssiges Sekret niemals

zu einer Stauung, sondern im Gegenteil zu einem gesteigerten Abschluß führen müßte, führt K.F. Bauer die "Verdickung durch Anreicherung von Neurosekret" (Bargmann, Scharrer) auf eine Regeneration des zentralen Neuritenstumpfes zurück. Wichtig ist die Feststellung, daß im Gegensatz zur Annahme einer neurosekretorischen Verbindung, wie sie vielfach angenommen wird, aufgrund anatomischer Untersuchungen und der physiologischen Vorgänge (K.F. Bauer u. Mitarb. 445, 446) ebensogut Funktionen im Sinne einer Neuroresorption angenommen werden können. Demnach sezerniert die Adenohypophyse unmittelbar ins Nervengewebe hinein. Das Inkret wird dann über den Hypophysenstiel in den Hypothalamus transportiert.

Ergebnisse von Transplantationsversuchen

Unabhängig von den oben diskutierten Verknüpfungstheorien wird die funktionelle Beziehung zwischen Hypothalamus und Adenohypophyse durch die Ergebnisse von Transplantationsversuchen gekennzeichnet.
Entsprechende Tierversuche zeigen, daß eine transplantierte Hypophyse nur dann funktionstüchtig bleibt, wenn sie in die direkte Umgebung des Hypothalamus verpflanzt wird und durch Gefäßregeneration wieder mit dem Hypothalamus in Verbindung kommt. Daraus ist zu entnehmen, daß die volle Funktion dieses Systems nur dann gewährleistet ist, wenn seine Einheit gewahrt bleibt (411).
Neuere Ergebnisse (297) deuten darauf hin, daß auch ohne eine direkte anatomische Beziehung zwischen HVL und Hypothalamus gewisse funktionelle Beeinflussungen des HVL durch Reize aus der Peripherie möglich sind. So ist es möglich, durch Östrogene die Ausbildung eines chromophoben Adenoms in einer subcutan transplantierten Hypophyse auszulösen. Transplantierte Hypophysen zeigen keine oder aber eine stark herabgesetzte FSH- und ICSH-Produktion, dagegen ist die Produktion des dritten gonadotropen Faktors, das luteotrope Prinzip (LTH) kaum beeinflußt und über lange Zeit hindurch nachweisbar. Entsprechende biologische Reaktionen (Auslösung einer Pseudograviditat bei der Maus, positiver Deziduomtest) legen die Vermutung

nahe, daß Hypophysentransplantate imstande sind, LTH zu produzieren.
Diese Feststellung würde aber bedeuten, daß die Bildung des LTH unabhängig von einer direkten Verbindung mit dem Hypothalamus oder einem übergeordneten Zentrum erfolgen kann.
Da die Auswertung eines luteotropen Effektes jedoch das Vorhandensein eines funktionstüchtigen Corpus luteum erfordert, und diese eine in situ vorhandene funktionierende Hypophyse voraussetzt, sind die erwähnten Beobachtungen u.E. nicht unbedingt als beweiskräftig anzusehen, da sie an nicht hypophysektomierten Tieren durchgeführt werden. Unter Ausnutzung des sog. mammotropen Effektes des LTH gelingt es jedoch auch am hypophysektomierten Tier einen LTH-Effekt eines Hypophysentransplantates nachzuweisen (297). Gegen die Vermutung, daß es sich möglicherweise um die Wirkung mobilisierter LTH-Depots im Transplantat handeln könnte spricht, daß die biologische LTH-Aktivität bis zu zwei Jahren nachweisbar ist, demnach eine tatsächliche Produktion von LTH im Transplantat angenommen werden darf.
Im Hinblick auf diese Ergebnisse dürfen zumindest in der hypophysären LTH-Produktion eigene Mechanismen angenommen werden, deren Einzelheiten aber noch nicht geklärt sind.
Von besonderer Bedeutung in diesem Zusammenhang ist die Beobachtung, daß auch der Gelbkörper in seinen Funktionen von der Transplantation der Hypophyse unabhängig zu sein scheint, wie den Ergebnissen neuerer Untersuchungen zu entnehmen ist (117, 86).
Diese Feststellungen erlauben den Rückschluß, daß im Falle einer Transplantation zumindest die Beziehung zwischen dem gonadotropen Prinzip im HVL - dem LTH - und dem von ihm beeinflußten Corpus luteum weiterhin aufrecht erhalten bleiben kann. Die Mitteilungen, die über extreme Störungen im Gonadotropinhaushalt nach Transplantation der Hypophyse berichten (411, 415, 175, 176, 68, 139), beziehen sich auf die Gonadotropine FSH und ICSH und lassen den luteotropen Faktor LTH unberücksichtigt.
Wie sehr die Problematik dieser Funktionen noch im Fluß ist, zeigen die Untersuchungen von Westmann (416). Nach diesen Ergebnissen dürfte die Frage wieder völlig offen sein, ob der

HVL unter gewissen Voraussetzungen nicht doch unabhängig von nervösen und neurohumoralen Transmissionen gonadotrope Hormone produzieren kann.

Einfluß der Ovarialsteroide auf die Produktion von gonadotropen Wirkstoffen im HVL

Betrachten wir im Rahmen dieser Arbeit lediglich den Einfluß der weiblichen Sexualhormone, so ist festzustellen, daß keine absolut gesetzmäßigen Beziehungen zu erkennen sind. Unter Berücksichtigung von Applikationsart und -zeit, -dauer und -zufuhr sowie allgemeiner Dosisfragen kann im allgemeinen beobachtet werden, daß große Dosen von Ovarialhormon die Funktion des HVL unterdrücken bzw. bremsen (33, 59, 97, 160, 214. 231, 232, 233, 270, 271, 295, 303, 315, 370, 378, 388, 409). Kleine Dosen dagegen üben einen Anreiz zur Funktionssteigerung aus (20, 87, 6, 7, 8, 9). Nicht geklärt ist dabei die Frage, ob es sich um einen Stimulationseffekt zu echter Hyperfunktion oder aber nur um eine reaktive Sekretion schon vorhandener Hormonreserven handelt. Anlaß zu einer solchen Vermutung war die Beobachtung (47), daß nach einer vermehrten Sekretion ein Stadium verringerter gonadotroper Aktivität d.h. eine Art "Aufbrauchphase" des HVL folgen soll.

Die Ergebnisse von Gonadotropinausscheidungen nach Sexualhormonbehandlung am Menschen scheinen nicht von der allgemein physiologischen Regel, die aus tierexperimentellen Ergebnissen abgeleitet wurde, grundsätzlich abzuweichen. Es gelang nachzuweisen, daß beim menschlichen Kastraten geringe Dosen Stilböstrol eine erhöhte Gonadotropinausscheidung hervorrufen (111, 248). Höhere Dosen verursachen eine Verringerung bzw. völliges Verschwinden der Gonadotropinausscheidung im Urin und verhindern gleichzeitig die Ausbildung der sog. Kastrationshypophyse (135, 198, 383). Nach kleinen Östrogendosen soll es nach den Angaben einiger Autoren besonders zu einer vermehrten Abgabe von ICSH und LTH kommen, während die Produktion von FSH unterdrückt wird (191, 167).

Methyltestosteron führt ebenfalls zur Verminderung der Gonadotropinausscheidung und zu einer anhaltenden Hemmung der Produktion im HVL nach Absetzen der Therapie (3). Andere Untersuchun-

gen (16) ergaben nach Applikation von Stilöstrol in der präovulatorischen Phase eine Erhöhung der Gonadotropinausscheidung und eine Verschiebung der Ovulation. Eine postovulatorische Behandlung hatte keine Änderung des Cyklusablaufes zur Folge, zeigte auffallenderweise aber auch keinen Einfluß auf die Gonadotropinausscheidung.
Die Ergebnisse über den Einfluß von Progesteron auf die Gonadotropinausscheidung sind uneinheitlich im Gegensatz zur Behandlung mit Östrogenen (62, 81, 151, 170, 374).
Die oben erwähnten Regeln über die Beziehung der Ovarialsteroide zu der Gonadotropinproduktion stellen lediglich einen Versuch einer groben Einordnung in die physiologischen Verhältnisse dar. In Wirklichkeit liegen diese wesentlich verwickelter. So läßt sich am Beispiel der therapeutischen Menstruationsverschiebung und der Verlagerung des Ovulationstermines zeigen, daß die Applikation von östrogenen Substanzen oder gestativ wirkender Stoffe allein nicht so effektvoll ist wie die Anwendung beider Wirkstoffe gemeinsam. Die naheliegende Vermutung eines einfachen Summationseffektes scheint sich nicht zu bestätigen. Man gewinnt vielmehr die Überzeugung, daß der Dosisquotient d.h. das Mischungsverhältnis von östrogenen zu progestativen Substanzen eine besondere Rolle spielt. Ergebnisse über optimale Wirkungsquotienten liegen aber bis heute noch nicht vor. Progesteron begünstigt bei erhöhten Östrogendosen die Ovulation, während es bei niedrigem Östrogenspiegel die Ovulation verschiebt (119). Daraus ist zu erkennen, daß die Wirkung des Progesterons auf den HVL vom jeweiligen Östrogenspiegel abhängig ist.

Der Einfluß nervöser Reize auf die LTH-Produktion in der Adenohypophyse

Daß die Östrogene unter geeigneten dosismäßigen Voraussetzungen einen Anreiz zur LTH-Produktion im HVL ausüben, ist heute aufgrund übereinstimmender anatomischer und physiologischer Untersuchungen anzunehmen.
Darüber hinaus scheinen auch bestimmte nervöse Reize stimulierend zu wirken. An der Ratte kann gezeigt werden, daß durch

mechanische und elektrische Reize des Genitale oder der Brustwarzen eine reflektorische Anregung zu vermehrter LTH-Bildung zustandekommt. Mit Hilfe dieser Reize kann beim Tier der Zustand der sog. Pseudogravidität hervorgerufen werden, d.h. die im gewöhnlichen Östruscyklus vorhandenen, nicht funktionierenden Corpora lutea zeigen unter diesen Bedingungen aktive Sekretion von Progesteron, nachweisbar am positiven Ausfall der Deciduomreaktion. Die Tatsache, daß der Saugreiz an der Brust zu einem höheren Gehalt an LTH im HVL führt (321) und die carminophilen Zellen, die man als LTH-Bildner ansieht, eine Zunahme aufweisen, deuten auf eine bestimmte, nervöse Reflexbahn hin. Vogt (401) konnte durch Exstirpation des Halssympathicus die Entstehung einer Pseudogravidität nach Stimulation der Brustdrüsen verhindern. Die Ergebnisse gehen hier aber erheblich auseinander und sind teilweise direkt widersprechend. So beobachteten Westmann und Jakobson (412) das Auftreten einer Pseudogravidität trotz Durchtrennung des Hypophysenstieles. Hingegen berichten Herold und Effkemann (182) über eine deutliche Hemmung der LTH-Produktion auf Östrogengaben nach Hypophysenstieldurchtrennung. Nach Westmann (413) verändern sich nach Durchtrennung des Hypophysenstieles vor allem die Eosinophilen mit den Zeichen einer fortschreitenden Degranuöierung und Volumenabnahme. Dieser Effekt läßt sich durch Östrogenzufuhr verhindern bzw. rückgängig machen. Alle experimentellen Untersuchungen sprechen dafür, daß die Produktion von LTH im HVL mehr als die übrigen gonadotropen Wirkstoffe durch nervöse Reize stimuliert werden kann.

Beim Versuch, diese Vorgänge zu deuten, wäre an die Möglichkeit zu denken, daß die nervösen Reize über den Weg einer vermehrten Sekretion von Östrogenen wirken, zumal die östrogenen Stoffe als humorale Stimulatoren der LTH-Bildung angesehen werden können. Diese Möglichkeit dürfte jedoch verneint werden, da bisher keine direkten, sicheren nervösen Einflüsse auf die Östrogenbildung im Ovar bekannt wurden.
Umgekehrt wäre die Frage berechtigt, ob Östrogene direkt oder über den Umweg einer nervösen Vermittlung indirekt auf die Tätigkeit der Adenohypophyse einwirken. Mit dem Hinweis darauf,

daß die nach Durchtrennung des Hypophysenstieles auftretenden Degranulierungsvorgänge und Volumenänderungen der Eosinophilen durch Östrogene verhindert bzw. rückgängig gemacht werden können, dürfte wahrscheinlich sein, daß die Östrogene direkt auf die Bildung des LTH einwirken. Ähnliche Resultate finden sich auch an östrogenstimulierten, transplantierten Hypophysen. Es scheint demnach, daß die Anregung des HVL zur Produktion des luteitropen Faktors über zwei getrennte Wege zustande kommen kann

a) einmal durch den Effekt der Östrogene, die als Stimulation auf den HVL zu vermehrter Sekretion von LTH einwirkt, oder aber
b) über bestimmte, anatomisch jedoch noch nicht gesicherte nervöse Bahnen, die vom Genitaltrakt oder der Brustdrüse ihren Ausgang nehmen.

Lokalisation der Gonadotropinproduktion im HVL

Durch die Erfolge biochemischer Untersuchungen bezüglich der Reindarstellung der gonadotropen Wirkstoffe wurde zwangsläufig das Interesse der anatomischen Forschung angeregt mit der Frage eines anatomisch exakt lokalisierbaren Entstehungsortes der Gonadotropine bzw. der Bestimmung der für ihre Produktion verantwortlichen Zellen in der Adenohypophyse,
Nach Romeis (336, 337) werden heute allgemein fünf Zelltypen unterschieden. Zwei Arten von "Eosinophilen", zwei Arten von "Basophilen" und die sog. "Chromophilen". Auf Einzelheiten ihrer morphologischen und färberischen Merkmale soll hier nicht eingegangen werden.
Die Schwierigkeit eine bestimmte Gonadotropinproduktion in einen besonderen Zelltypus zu verlegen, geht allein daraus hervor, daß FSH und ICSH aus Hypophysenextrakten zwar als getrennte Stoffe isoliert werden können, daß damit aber noch nicht sicher bewiesen ist, daß die Hypophyse tatsächlich die beiden gonadotropen Substanzen getrennt sezerniert. Diese Unklarheit stellt die Absicht, die hypophysäre Gonadotropinproduktion morphologisch in bestimmte Zellen verlegen zu wollen, auf einen unsicheren Boden. Die Vermutung, daß die Basophilen

aufgrund tierexperimenteller und anatomischer Untersuchungen als Gonadotropinbildner in Frage kommen, ließ sich weiter stützen durch die Aufklärung der Glykoproteidstruktur der Gonadotropine und der Möglichkeit Polysaccharide durch die Perjodsäure-Leukofuchsin-(PSL)-Methode (Mc.Manus, 281) direkt im Gewebe nachweisen zu können. Die Methode erhebt in Anbetracht der starken Verbreitung von Polysacchariden Glykolipoproteiden usw. im Organismus keinen Anspruch auf die Möglichkeit eines spezifischen Nachweises von Glykoproteiden. Dennoch ist nach den Ergebnissen von Pearse (308) und anderen Untersuchern die histochemische Reaktion im Bereich des HVL im wesentlichen auf die kohlehydrathaltigen Gonadotropine zu beziehen. Durch die Weiterentwicklung spezieller färbetechnischer Reaktionen (Gomori, 161, Halmi, 171 u.a.) scheint bereits die histochemische Differenzierung der Glykoproteide schon nähergerückt zu sein.

Für die Produktion des LTH werden seit Schocley und Riddle (350) die Eosinophilen der Adenohypophyse verantwortlich gemacht. Diese Vermutung wurde aus der Beobachtung abgeleitet, daß die Eosinophilen während der Schwangerschaft erheblich vermehrt sind und die Hypophyse auf Östrogengaben ähnliche Zellveränderungen aufzuweisen hatte wie während der Schwangerschaft. Nachdem bekannt ist, daß physiologische Dosen von Östrogenen die Adenohypophyse zu vermehrter LTH-Produktion anzuregen vermögen, darf man annehmen, daß die Vergrößerung der Hypophyse die Steigerung der Mitosetätigkeit (210) und die Vermehrung der Eosinophilen nach Östrogenzufuhr zumindest teilweise der Produktion des luteotropen Faktors dienen. In neueren Untersuchungen wurde bei der Azanfärbung eine weitere Zellart abgetrennt, die wegen ihrer besonderen Affinität zum Azocarmin als carminophile Zellen bezeichnet wurden. Diese Zellen gehören in die Gruppe der Eosinophilen und werden wegen ihres charakteristischen Verhaltens in der Gravidität und Lactationsperiode für die Luteotropinproduktion verantwortlich gemacht. Ob die LTH-Bildung außerhalb der Schwangerschaft auch in den eosinophilen Zellen abläuft, ist noch nicht abschließend zu beurteilen.

Chemische, physikalisch-chemische und biologische Eigenschaften der Gonadotropine

Chemische Merkmale

Chemisch handelt es sich bei den gonadotropen Hormonen - mit Ausnahme des LTH - um sog. Glucoproteide mit einer unterschiedlichen Menge an Hexose und Hexosamin (10, 11). Die Bedeutung des Kohlehydratanteiles im Molekül ist noch ungeklärt. Es wird die Möglichkeit diskutiert, daß das Kohlehydrat eine Art prosthetische Gruppe darstellt (30), während andererseits die Ansicht besteht, daß das Kohlehydrat im Rahmen der Molekülstruktur zu einer spezifischen Gruppierung führt, welche die gonadotrope Wirksamkeit bedingt (1, 5. 10, 51, 112, 138, 139, 249, 250, 251, 360, 397, 440).

Physikalisch-chemische Angaben

Die genaue physikalisch-chemische Natur läßt sich noch nicht ganz bestimmen (97). Einige von diesen Glucoproteiden sind "rein" dargestellt, soweit man mit den üblichen biologischen und physikalisch-chemischen Kriterien für homogene Eiweißstoffe ihre Reinheit beurteilen kann, wie z.B. durch Elektrophorese, Diffusion, Löslichkeitsteste, Ultrazentrifugierung, chromatographische Trennung und Gegenstromverteilung.
Von einer wirklichen Reindarstellung im chemischen Sinne kann jedoch nur mit Vorbehalt gesprochen werden (393), da selbst aus "hochgereinigten" Präparaten durch enzymatische Abspaltung unter geeigneten Voraussetzungen noch Peptifraktionen mit hoher gonadotroper Aktivität von biologisch praktisch unwirksamen Proteinen getrennt werden konnten (72, 99, 100, 101, 108, 167, 384). Es ist daher nicht mit Sicherheit auszuschließen, daß möglicherweise bei dem einen oder anderen des isolierten "reinen" Gonadotropins ein biologisch hochaktiver Teil locker an eine inaktive Trägersubstanz gebunden ist (223, 236, 296). Mit Recht ist darauf hingewiesen worden (296), daß es möglich wäre, daß ihre biologische Aktivität in einem kleinen Anteil des Moleküls sitzt, oder durch einen Spurenbestandteil verursacht sein kann. (97)

Biologische Natur der Gonadotropine

Bei den Arbeiten, die physikalisch-chemische bzw. biologische Natur der Gonadotropine aufzuklären, stand eine grundsätzliche Frage zur Diskussion, nämlich die, ob das hypophysäre FSH und ICSH ein einheitlicher Stoff ist oder nicht. Für die von Wiesner u. Marshall (424) wohl zuerst geäußerte Ansicht, daß es sich um zwei verschiedene Wirkstoffe handelt, sprechen verschiedene Beobachtungen.

Die Herstellung eines biologisch potenzierten und damit chemisch weitgehend gereinigten FSH wurde von Fevold u. Mitarb. (129, 130, 131), Fraenkel u. Conrat u. Mitarb. (141), dem Arbeitskreis von Greep, van Dyke u. Chow (69, 166), sowie von der Forschergruppe Mc Sham u. Meyer (282, 283, 284) erreicht. Bei den Präparaten der genannten Autoren handelt es sich aber um stark angereicherte Gemische der beiden hypophysären Wirkstoffe FSH und ICSH.

Es gelang schließlich Li u. Mitarb. (253, 254, 255, 256, 257) erstmalig die Darstellung des reinen FSH. Das Material war elektrophoretisch homogen, in Ultrazentrifugierung und Löslichkeitstesten einheitlich und auch biologisch frei von Nebenwirkungen. Daß von einer reinen Darstellung im chemischen Sinne wohl auch hier nicht die Rede sein kann, beweisen Untersuchungen aus neuerer Zeit (108), wo über die Darstellung von Pepsinhydrolysaten von FSH berichtet wird, die selbst auch wieder follikelstimulierende Aktivität besitzen.

Das Ausgangsmaterial zur Gewinnung von ICSH stellen - analog den Präparaten des FSH - tierische Hypophysen dar. Im Gegensatz zu FSH, das die Hypophysen fast aller Spezies in gleicher Weise enthalten, findet sich ICSH bei einzelnen Tierarten kaum. Bei anderen hingegen stellt es den überwiegenden Anteil des gonadotropen Prinzipes dar.

Nachdem erste Ergebnisse über die chemische Trennung der Gonadotropine in zwei unterschiedliche Fraktionen vorlagen (113, 130, 129, 408), gelang es van Dyke u. Mitarb. (166), sowie Evans u. Mitarb. (258) unabhängig voneinander reines ICSH aus Hypophysen von Schafen und Schweinen zu isolieren. Diese Präparate erwiesen sich nach elektrophoretischer Prüfung, Ultrazentrifugierung, Dealyse und in den Löslichkeitstesten als homogen (259, 369, 258).

Diese ICSH - Praparate sind trotz biologisch gleichartiger Wirkung physikalisch-chemisch und chemisch nicht einheitlich, sondern unterschiedliche Eiweißkörper, deren immunologische Trennung ohne weiteres möglich ist (70).
Inwieweit und ob überhaupt die meist an Nagern ermittelten experimentellen Befunde auf die menschlichen Verhältnisse übertragen werden können, ist noch weitgehend ungeklärt. Um die Vorgänge am Menschen sicher beurteilen zu können, wären Untersuchungen am Menschen selbst erforderlich. Diesem Vorhaben stehen aber hinsichtlich der Gonadotropine zahlreiche technische Schwierigkeiten gegenüber (184), nicht zuletzt die unzureichenden Kenntnisse über die Bildung, Sekretion, den Stoffwechsel und die Ausscheidungsform der gonadotropen Wirkstoffe. Allein die Tatsache, daß eine Trennung der ausgeschiedenen hypophysären Gonadotropine, in eine FSH- und ICSH-Komponente noch nicht gelang, zeigt die Schwierigkeit der Untersuchungsmöglichkeit (213, 356, 378). Es läßt sich die Vermutung ableiten, daß es sich hier möglicherweise um eine einheitliche gonadotrope Substanz handelt (400).
Solange keine Beweise vorliegen, daß FSH und ICSH auch beim Menschen als zwei substantiell verschiedene Stoffe anzusehen sind, müssen wir uns mit der Feststellung begnügen, daß im Urin hormonelle Stoffe zur Ausscheidung kommen, welche biologisch wirkungsgleich zu denjenigen sind, die als FSH und ICSH aus der Hypophyse isoliert werden können.

Die Schwierigkeit wird weiterhin dadurch charakterisiert, daß uns bis heute eine für die FSH-Aktivität spezifische Nachweismethode in einem Hormongemisch mit FSH- und ICSH-Wirkung nicht zur Verfügung steht. Die routinemäßig angewendeten Testmethoden geben in der entsprechenden Reaktion lediglich einen komplexen Vorgang wieder, der durch das Zusammenwirken beider Komponente zustande kommt (37). Diese Gesichtspunkte müssen bei der Auswertung einer FSH-Wirkung im biologischen Versuch immer ernsthaft berücksichtigt werden (50). Diese Einschränkung trifft für das ICSH jedoch nicht zu, da hier eine spezifische Nachweismethode zur Verfügung steht, die nicht durch das gleichzeitige Vorhandensein von FSH beeinflußt wird (96, 165, 164).

Der luteotrophe Faktor der Adenohypophyse

Der 3. gonadotrope Faktor - das LTH - ist durch einen zweifachen "tropen" Effekt gekennzeichnet und interessiert im Rahmen dieser Arbeit besonders.
Seine Existenz als mammotroper und lactogener Faktor, der im HVL produziert wird, ist seit den Arbeiten von Stricker und Grueter bekannt (387, 388). Daß es sich bei dem LTH gleichzeitig um einen Teil des gonadotropen Prinzipes handelt, wurde erst durch Untersuchungen der folgenden Jahre festgestellt (80, 256, 284, 269, 268, 137, 285, 286, 330, 331, 418, 420, 421).
Als Ausgangsmaterial zur Darstellung des LTH dienen, wie bei den anderen Gonadotropinen, tierische Hypophysen besonders von Schafen und Rindern, die einen rel. hohen Gehalt an LTH aufweisen (67, 235). Die Darstellung des LTH wird nach der Methode von Lyons (269) in der von Li (240, 241, 242, 243, 244) angegebenen Modifizierung durchgeführt.
Die chemische Differenzierung gegenüber FSH und ICSH ist ohne Schwierigkeiten möglich.

Chemische Daten

LTH enthält als einziges Gonadotropin keine Hexose, keine Aminohexose und auch keine Sulfhydrilgruppen (245, 246, 247, 142). LTH ist demnach kein Glukoproteid im Gegensatz zu FSH und ICSH. In der Reindarstellung des LTH konnten besonders in der letzten Zeit große Fortschritte gemacht werden und auch die chemische Struktur schon teilweise aufgeklärt werden (Li).

Physikalisch-chemische Daten

Innerhalb verschiedener Tierarten sind Unterschiede im Tyrosingehalt des LTH beschrieben (246) und die Tryptophanwerte sollen von der jeweiligen Bestimmungsmethode abhängige Schwankungen aufweisen, ebenso wie die Löslichkeitsverhältnisse (246, 241). LTH von Rind und Schaf zeigte elektrophoretisch, in der optischen Rotation und im isoelektrischen Punkt gleichartiges Verhalten (246, 241). Immunologische Spezies - spezifische Unterschiede konnten nicht nachgewiesen werden (36) - während allgemein ein "anti LTH" beobachtet werden konnte.

Einfluß des LTH auf enzymatische Reaktionen im Ovar bzw. auf die Steroidsynthese.

Es ist im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich, auf dieses komplexe Arbeitsgebiet näher einzugehen. Die wenigen grundsätzlichen Ergebnisse aus dem Verhältnis von LTH auf ovarielle Enzyme sollen nur kurz angedeutet werden. Die untersuchungstechnischen Voraussetzungen waren entsprechend der Fragestellung allgemein im wesentlichen so, daß am hypophysektomierten Tier das Verhalten bestimmter Enzyme oder anderer Substanzen des Ovars in Abhängigkeit von genau dosiertem LTH-Einfluß kontrolliert wurde.

Dabei ergab sich bei der Überprüfung der Adenosintriphasphatase, der alkalischen und sauren Phosphatase keine charakteristische Reaktion, während die Bernsteinsäuredehydrogenase eine deutliche funktionelle Beziehung zur LTH-Aktivität erkennen läßt und auch physiologische Abhängigkeiten aufweist. Noch deutlicher sind die Einflüsse des LTH, als luteotropher Faktor, auf das stoffwechselphysiologische Verhalten des Cholesterins, das als Vorläufer bzw. Grundsubstanz der Ovarialsteroide insbesondere des Progesterons anzusehen ist. Die Beeinflussung der Progesteronsynthese läßt sich deutlich nachweisen, so daß aufgrund dieser Fähigkeit ein Nachweis der luteotrophen Eigenschaften des LTH durchaus möglich erscheint.

Biologische Eigenschaften (Tierexperimentelle Ergebnisse.)

Die ersten Hinweise auf die Möglichkeit, daß neben dem FSH und ICSH ein dritter, gonadotroper Wirkstoff mit diesen gemeinsam die Funktion der Keimdrüsen regelt, liegen jetzt etwa 20 Jahre zurück.
Astwood u. Fevold (14) wiesen als erste darauf hin, daß die Funktion des Corpus luteum unter der Kontrolle eines hypophysären Hormons steht, und daß dieser Stoff nicht mit dem luteinisierenden Faktor der Hypophyse (ICSH) identisch ist. Die genannten Forscher zeigten, daß bei hypophysektomierten Ratten durch Gonadotropininjektion erzeugte Gelbkörper nur durch die Applikation von LTH funktionstüchtig wurden und ihre Wirksamkeit aufrecht erhalten werden konnte. Evans, Simpson u. Lyons (115) kamen auf anderem Wege zu der gleichen Feststellung. Die Autoren untersuchten die Progesteronwirksamkeit von Rattengelbkörpern

nach LTH-Vorbehandlung an der sog. Plazentom- bzw. Deziduombildung des Rattenuterus (238). Die Deziduombildung als Kriterium der aktiven Progesteronsekretion des Corpus luteum war nachweisbar sowohl bei hypophysektomierten wie auch bei adrenalektomierten, nicht aber bei ovarektomierten Tieren. Die letztere Beobachtung kann als Beweis dafür angesehen werden, daß LTH in irgendeiner Form auf die Progesteronsynthese bzw. Progesteronsekretion einwirkt.

Nach Applikation von Testosteronpropionat kann im Uterus von Ratten ebenfalls eine Deziduombildung ausgelöst werden unter der Voraussetzung, daß im behandelten Tier funktionstüchtige Corpora lutea vorhanden sind. Ohne den Mechanismus erklären zu können, wird hierbei angenommen, daß die Deziduombildung nicht als direkter Effekt des Testosterons zu werten ist, sondern erst über eine Zwischenschaltung des Corpus luteum zustande kommt (136). Ob und inwieweit eine Stimulierung der hypophysären LTH-Produktion durch diese Behandlung erfolgt, die ihrerseits dann die Progesteronsekretion anregt und in Gang bringt, ist nicht geklärt. Die Möglichkeit verdient aber eine ernsthafte Diskussion (114, 115).

Es besteht kein Zweifel, daß die Deziduomreaktion ein für den Nachweis einer Progesteronaktivität weitgehend spezifischer Test ist. Dabei ist der Weg, über den es zu einer Anregung zu vermehrter Progesteronabgabe durch das Corpus luteum kommt, nicht in jedem Falle geklärt. Mit den bisherigen Mitteln konnte festgestellt werden, daß der luteotrope Wirkstoff des HVL mit dem sog. Hormon - auch Prolactin genannt - der Hypophyse identisch ist (115). Frühere Untersuchungen, wie z.B. die Beobachtung, daß Hypophysenextrakte den Östrus zu unterdrücken vermögen (238), sowie die Beobachtung, daß zwischen dem Corpus luteum, seiner Funktion und der Aufrechterhaltung einer Gravidität nach Hypophysektomie bestimmte Beziehungen bestehen (334, 335, 336) und nicht zuletzt die Feststellung, daß funktionierende Corpus lut. nach der Hypophysektomie nicht mehr in der Lage sind Progesteron zu sezernieren, findet in den neueren Erkenntnissen ihre Erklärung.

Tobin (392) konnte an normalen Ratten durch Behandlung mit LTH das Persistieren von funktionstüchtigen Gelbkörpern erzielen, auch wenn die Tiere adrenalektomiert waren. Abgesehen von einer

fördernden Wirkung auf die Sekretionsfähigkeit des Corpus luteum war gleichzeitig unter der LTH-Behandlung ein günstiger Einfluß auf die Lebensdauer der adrenalektomierten Tiere zu erzielen. Cutuly (82) konnte beweisen, daß bei hypophysektomierten graviden Ratten die Schwangerschaft erhalten bleibt, wenn die Sekretionsfähigkeit der Gelbkörper durch Zufuhr von LTH unterstützt wurde. Übertragungen bis zu 8 Tagen wurden bei dieser Behandlung beobachtet. Die Anzahl der Fälle reicht aber nicht aus für eine statistische signifikante Auswertung und physiologische Erklärung dieser Vorgänge. Weiterhin bestätigen die Ergebnisse von Desclin (88, 90) die luteotrophe Wirkung des LTH an hypophysektomierten Ratten durch den Nachweis der Deziduombildung, an dem morphologischen Aufbau der untersuchten Gelbkörper, der entsprechenden Schleimreaktion des Vaginalepithels, sowie durch die Möglichkeit, die sog. Östrusreaktion der Tiere unterdrücken zu können. Übereinstimmend sind schließlich die Beobachtungen von Mayer (279) und Mayer u. Canivens (280), die an normal östrierenden Ratten die Intervalle deutlich verschieben konnten, wenn man den Tieren gegen Ende des Östrus LTH zuführte. Diese Fähigkeit des LTH wurde auch als Grundlage einer biologischen Nachweisreaktion verwendet (227).

Durch Stimulation durch Östrogene läßt sich der luteotrophe Effekt auf das Corpus lut. steigern (91). Gleichartige Feststellungen machte auch Talbot in seinen Untersuchungen unter Verwendung von einer täglichen Dosis von 34 Gamma Diäthylstilböstrol (367). Nach Bradbury nehmen Ovarial- und Hypophysengewichte nach Östrogenbehandlung stark zu (38). Eine Zunahme des Hypophysengewichtes, Vergrößerung der Zellen und eine deutliche Steigerung der Mitosefrequenz besonders der Acidophilen, sowie ein Ansteigen deren Gesamtzahl beobachteten Baker u. Everett (19). Ähnliche Beobachtungen wurden auch von anderen Untersuchern mitgeteilt (197, 236, 358, 395).

Sydnor (379) untersuchte die Beeinflussung der zeitlichen Verhältnisse der Deziduombildung durch LTH bei normalen und pseudograviden Tieren. In Übereinstimmung mit Selvy u. Mitarb. (357) findet sich ein Maximum der Reaktion etwa am 4. Tag. Ähnliche Ergebnisse mit unwesentlichen zeitlichen Differenzen werden in anderen Arbeiten berichtet (265, 17, 339). Untersuchungen von

Pekkam u. Green (309) an graviden Tieren machen es unwahrscheinlich, daß die Plazenta bzw. die Dezidua einen für die Entstehung der Deziduome verantwortlichen Faktor produziert.

Die oben erwähnten Mitteilungen über luteotrophe Wirkung des LTH beziehen sich fast ausschließlich auf Beobachtungen an der Ratte. Sie bestätigen einheitlich, daß das LTH ein Wirkstoff mit luteotrophem Effekt ist und wahrscheinlich allein für die luteotrophe Wirkung am Erfolgsorgan verantwortlich ist. Die Ergebnisse an anderen Spezies sind uneinheitlich und können zum Teil einen spezifisch luteotrophen Effekt des LTH nicht bestätigen. So konnte Mayer (301) die Umwandlung luteinisierter Zellen in sezernierende Zellen, wie es LTH bei der Ratte bewirkt, am Kaninchen nicht beobachten. Mayer (279) und Klein u. Mayer (221) fanden am Kaninchen keine Verlängerung der Corpus luteum Phase während der Pseudogravidität. Auch an den Primaten konnte der Beweis einer eindeutigen luteotrophen Wirkung des LTH nicht geführt werden. Bryans (49) konnte in Bestätigung früherer Untersuchungen von Hisaw (192) an Affen keine Verlängerung des Menstruationscyklus durch die Applikation von LTH beobachten, obwohl beide Untersucher (49, 192) den Cyklus durch menschliches Choriongonadotropin (HCG) verlängern und dabei zeigen konnten, daß die Corpus lut. während der Cyklusveränderungen ihre Funktionstüchtigkeit beibehielten. Andere Mitteilungen besagen, daß es an Schafen gelang, die durch HCG entstandenen Gelbkörper durch tägliche Dosen von 300-400 I.E. LTH bis zu 30 Tagen zu erhalten. Wenn LTH abgesetzt wurde, bildeten sie sich sehr schnell zurück (294).
Diese uneinheitlichen Ergebnisse scheinen Bradbury u. Mitarb. (39) veranlaßt zu haben, es für verfrüht anzusehen, LTH generell als den luteotrophen Faktor zu bezeichnen.

Biologische Wirkung des LTH beim Menschen

Die im Tierversuch gefundenen, offensichtlich speziesgebundenen Abweichungen in den Reaktionen werden mit ähnlichen Differenzen auch bei Untersuchungen am Menschen bestätigt. Kuppermann, Fried u. Hair (226) wenden aufgrund klinischer Beobachtungen LTH zur Behandlung bestimmter Formen von Menorrhagien und bei drohenden Aborten an. Birnberg u, Mitarb. (35) scheinen LTH als Mittel zur Behandlung bzw. zur Prophylaxe des habituellen Abortes mit

Erfolg gegeben zu haben. Die gleiche therapeutische Konsequenz leitet auch White (422) aus seinen Ergebnissen ab. Fried u. Rakoff (147) konnten nach einer kombinierten Behandlung von HCG und LTH eine signifikante Verlängerung der Lutealphase des Cyklus erreichen. Interessant dabei ist die Feststellung, daß jeder der beiden Wirkstoffe, wenn er allein gegeben wurde, diesen Effekt nicht aufzuweisen hatte. Dieses therapeutische Resultat läßt einen gewissen synergistischen Effekt beider Substanzen im Hinblick auf einen luteotrophen Effekt bei der Frau vermuten. Dagegen wird in einer anderen Mitteilung berichtet (319), daß eine Verlängerung der Corpus luteum Phase bei Frauen erreicht werden konnte, wenn in der letzten Cyklushälfte täglich 400 i.E. LTH gegeben wurden.

Was das LTH anbetrifft, so kann gesagt werden, daß die jetzt vorliegenden Ergebnisse nicht dagegen sprechen, daß diesem hypophysären Wirkstoff auch beim Menschen eine positive Wirkung zukommt. Diese Vermutung wird unterstützt durch die Tatsache, daß in der menschlichen Hypophyse LTH nachzuweisen ist, im Urin zur Ausscheidung gelangt und Spitzenwerte in der Lutealphyse aufweist (78).
Diesen Mitteilungen, die über positive Ergebnisse berichten, stehen auch gegenteilige Berichte gegenüber, wo nach Behandlung mit LTH kein Einfluß auf die zeitliche Ausdehnung des Cyklus erreicht werden konnte (39, 204, 279).

Villaverde (399) versucht die östrushemmende Wirkung des LTH bei der Behandlung des Hyperfollikulinismus, wie es scheint, mit Erfolg auszunutzen. Die tierexperimentelle Begründung dieses Vorgehens kann bis zu einem gewissen Grade erschüttert werden, da je nach Reinheitsgrad der verschiedenen LTH-Präparate eine Beteiligung von ICSH nicht ausgeschlossen werden kann. Auf diesen Gedanken wiesen früher bereits Nathanson u. Fevold (300) schon hin. Eine Störung der hypophysären Hormonproduktion mit dem klinischen Bild der Gynäkomasthie soll auch eine Dysregulation der LTH-Versorgung zurückzuführen sein (108).

Die "luteotrophe" Wirkung des HCG

Überblickt man die oben mitgeteilten klinischen Beobachtungen, so fällt auf, daß HCG den luteotrophen Effekt des LTH irgendwie unterstützt. Beide Stoffe wirken synergistisch. Während Fried u. Rakoff (147) mit HCG alleine keinen luteotrophen Effekt bei der Frau erzielen konnten, teilen Bradbury u. Mitarb. (39) sowie Segaloff, Sternberg u. Gaskill (355) mit, daß sie mit HCG die Corpus luteum Phase beim Menschen verlängern konnten. Damit scheint der Einfluß des HCG von der jeweiligen Dosis abhängig zu sein.

Unter Berücksichtigung dieser Feststellungen würde dem nicht-hypophysären Gonadotropin HCG ein luteotropher Effekt zukommen. Der Wirkungsmechanismus, in dessen Folge es zu einem luteotrophen Effekt kommt, ist jedoch noch völlig problematisch.

Rein theoretisch könnte man versuchen, eine mögliche luteotrophe Wirkung des HCG mit den seinerzeit von Everett mitgeteilten Beobachtungen zu erklären (122). Danach soll es durch HCG zu einer Anlagerung von Cholesterin im Corpus luteum von Ratten kommen. Unter Mitwirkung des LTH erfolgt dann eine weitere Synthese und schließlich die Sekretion von Progesteron, als dessen Vorläufer-Substanz das Cholesterin anerkannt ist. Inwieweit die Akkumulationswirkung auf die dem HCG eigene ICSH-ähnliche Aktivität beruht, kann heute noch nicht gesagt werden.

Damit wäre weniger die Frage nach dem Wirkungsmechanismus des HCG in Bezug auf seinen luteotrophen Effekt beantwortet, als ein Hinweis auf den zwischen HCG und LTH vorhandenen synergistischen Effekt gegeben.

Es bleibt die Frage offen, ob dem HCG eine direkte oder indirekte luteotrophe Wirkung zugeschrieben werden kann.

Die "luteotrophe" Wirkung der Plazenta

Es ist bekannt, daß bei bestimmten Tierspezies die Plazenta einen luteotrophen Effekt auslösen kann. Wenn hier von bestimmten Spezies die Rede ist, so nicht im Sinne einer Einschränkung an sich. Diese Formulierung schließt nicht aus, daß gleiche oder ähnliche Reaktionen auch bei anderen Tieren möglich sein können; entsprechende Untersuchungen wurden aber bisher nicht durchgeführt.

Unter entsprechenden Voraussetzungen ist es möglich, die Wirkung der Hypophyse für die Aufrechterhaltung einer Gravidität durch die Plazenta zu ersetzen und das Wachstum des Drüsenkörpers der Mamma anzuregen, was im allgemeinen die Anwesenheit der eigenen Hypophyse erfordert. Astwood u. Greep (15, 16) isolierten aus der Rattenplazenta einen luteotroph wirksamen Stoff, den sie Cyonin nannten. Sie glaubten, daß diese Substanz mit dem aus Hypophysen darstellbaren LTH identisch ist. In neuerer Zeit wiesen Averill, Ray u. Lyons (18) darauf hin, daß bei hypophysektomierten Tieren, bei denen es sonst nach der operativen Entfernung der Hypophyse sofort zur Unterbrechung der Schwangerschaft kommt, die Gravidität aufrecht erhalten bleibt, wenn täglich eine Rattenplazenta vom 12. Graviditätstag implantiert wird. Diese Wirkung war nur vorhanden, wenn das Tier über intakte Ovarien verfügte. Mayer u. Canivenc (276) und Canivenc (65) bestätigen den luteotrophen Effekt implantierter Rattenplazenten durch den histologischen Nachweis einer Hypertrophie der Luteinzellen, der Muzifizierung des Vaginalepithels und den Wachstumseffekt auf die Drüsenacini der Mammae. Die Frage nach der Natur des luteotrophen Stoffes aus der Plazenta und seine mögliche Identität mit dem hypophysären Gonadotropin war lange Zeit ein umstrittenes Problem. Nach der heutigen Ansicht scheint aber die Frage zwischen planzentarem Luteotropin und dem hypophysären LTH zugunsten einer Identität dieser Stoffe geklärt zu sein (65, 18, 86).

Nicht beantwortet ist dabei die Frage:
ob die Plazenta imstande ist, selbst LTH zu produzieren, oder ob sie nur eine Art Speicherfunktion für das in der Hypophyse gebildete LTH ausübt.

Nach der Beobachtung, daß die Ratte keine Störung der Schwangerschaft erfährt, wenn ihr in der zweiten Hälfte der Graviditität die Hypophyse operativ entfernt wird, hält man es für unwahrscheinlich, daß eine mögliche Speicherung von LTH in dem Maße erfolgt, daß die Depots für den Bedarf der restlichen Tragzeit ausreichen. Es wird aus diesem Grunde angenommen, daß die Plazenta selbst befähigt ist LTH in der erforderlichen Menge zu produzieren.

Den Nachweis einer plazentaren Bildung und Sekretion vom LTH

glauben Mayer und Canivenc (277) auf folgende Art geführt zu haben.
Sie gehen von der Beobachtung aus, daß nach einer Ovarektomie am 12. Schwangerschaftstag die Brustdrüse der Ratte mit einer sekretorischen Umwandlung des Drüsenepithels reagiert. Wenn neben der Ovarektomie außerdem der Uterus entfernt wurde, zeigte sich im Drüsenparenchym keine sekretorische Umwandlung des Epithels. Aus dieser Beobachtung wurde abgeleitet, daß der Stimulationsreiz zur Sekretion von der Plazenta ausgeht. Der lactogene Effekt der Plazenta konnte in diesen Fällen durch 200 I.E. LTH substituiert werden mit dem Ergebnis einer entsprechenden sekretorischen Epithelreaktion.
Bei kritischer Stellungnahme können wir die erwähnte Deutung der funktionellen Vorgänge, wie sie uns Mayer und Canvenc (277) übermitteln, nicht bedenkenlos anerkennen, da u.E. auch die folgende Erklärung durchaus diskutabel zu sein scheint. Dabei ist von der grundsätzlichen Erkenntnis auszugehen, daß bei Kaninchen und Ratten, neben zahlreichen anderen Tieren im Gegensatz zum Menschen, die Erhaltung einer Schwangerschaft ohne ein Corpus luteum nicht möglich ist (438). Die Funktionsfähigkeit des Corpus luteum steht unter dem Einfluß des luteotrophen Faktors - des LTH - das gleichzeitig auch als lactogenes Prinzip gilt. Beide Wirkungen sind niemals gleichzeitig vorhanden, sondern, von den funktionellen Erfordernissen gesteuert, nur einzeln nachweisbar. So ist z.B. der Lactationsgelbkörper bei der Ratte nicht gestativ, d.h. er ist ohne aktive Progesteronsekretion. Im Falle einer Ovarektomie, wie sie in der obigen Versuchsanordnung durchgeführt wurde, fällt der trope Effekt auf das Corpus lut. weg. LTH kann jetzt in konzentrierter, ungeteilter Form auf das Brustdrüsenparenchym einwirken und hier seinen lactogenen Effekt auslösen. Möglicherweise wird dieser Effekt zusätzlich durch in der Plazenta vorhandenes LTH noch unterstützt, ohne daß damit gesagt sein soll, daß die Plazenta über eine eigene LTH-Produktion verfügt.
Werden Ovar und Uterus entfernt, wie oben erwähnt, kommt es nicht zur sekretorischen Umwandlung des Epithels. Wir sind der Ansicht, daß unter diesen Voraussetzungen die hypophysäre LTH-Produktion infolge fehlender oder nicht mehr vorhandener Stimu-

lation nicht mehr erfolgt. Gegen die Vermutung, daß der Stimulationsreiz zur Sekretion von LTH von der Plazenta ausgeht, sprechen auch die Vorgänge, die sich normalerweise beim Partus abspielen. Hier kommt der lactogene Effekt bei vorhandenen Ovarien erst mit Ausstoßung der Plazenta zustande. Die Gründe dürften u.E. mehr in quantitativen Verschiebungen des Dosisverhältnisses zwischen Steroiden des Ovars und der Plazenta einerseits und den hypophysären Wirkstoffen andererseits zu suchen sein. Eine eigene Produktion von LTH durch die Plazenta ist u.E. aus diesen Ergebnissen nicht bewiesen.

Die biologischen Bestimmungsmethoden werden in einem anderen Zusammenhang beschrieben (vgl. S.37).

Zusammenfassung

Wir haben versucht, in einer gedrängten Darstellung einen Überblick der heutigen Erkenntnisse über die gonadotropen Wirkstoffe zusammenfassend zu vermitteln. Dabei wurde der sog. "luteotrophe Faktor" der Adenohypophyse im Interesse der nachfolgenden eigenen experimentellen Untersuchungen eingehender besprochen. Bei der Erörterung der physiologischen, chemischen, physikalisch-chemischen und biologischen Eigenschaften wurde im jeweiligen Zusammenhang auf die noch in großer Zahl vorhandenen ungeklärten Fragen eingegangen. Nachdem die Frage einer möglichen extrahypophysären LTH-Produktion besonders in jüngerer Zeit wieder ernsthaft diskutiert wird, haben wir diesen Fragenkomplex herausgegriffen und eingehend untersucht. Dabei schien es besonders wichtig, die Bedeutung der Plazenta in Bezug auf einen luteotrophen Effekt zu überprüfen und das funktionelle Verhalten zur Hypophyse zu untersuchen. Bei der Untersuchung der luteotrophen Wirkung durch gonadotrope Wirkstoffe stand weiterhin der ungeklärte Funktionsmechanismus bzw. das Zustandekommen eines luteotrophen Effektes durch das nicht-hypophysäre Gonadotropin (HCG) zur Diskussion, speziell die Frage, ob HCG direkt luteotrop oder erst unter Zwischenschaltung weiterer hormoneller Systeme und Funktionen indirekt luteotroph wirkt. Diese Fragen wurden eingehend untersucht.

Eigene Untersuchungen

I. T e i l

1. Die Frage der Lokalisation der LTH-Produktion

Fragestellung und Problematik:

Aus der zusammenfassenden Übersicht der bis heute bekannten physiologischen und physikalisch-chemischen Daten der gonadotropen Hormone, speziell des sog. luteotrophen Faktors des HVL, geht hervor, daß noch zahlreiche, unbekannte Faktoren vorhanden sind und auf bisher unerklärliche Weise in die funktionellen Vorgänge eingreifen. Wir können uns nach den heutigen Erkenntnissen, die nur bruchstückweise Einblick in dieses komplexe Geschehen erlauben, nur in vorsichtiger Zurückhaltung eine Vorstellung von den eigentlichen Wirkungsmechanismen machen.

Eines der zahlreichen Probleme stellt die Frage nach der Bildung der geweblichen Lokalisation der LTH-Produktion dar.

Hier stehen sich, wie oben bereits gezeigt, die Anschauungen direkt gegenüber.

Auf der einen Seite soll der HVL mit den entsprechenden Untergruppen der acidophilen Zellen als Produktionsstätte des LTH in Betracht kommen. Auf der anderen Seite wird der Plazenta die Fähigkeit LTH zu bilden zugeschrieben.

Nach neueren Untersuchungen wird auch die Möglichkeit einer LTH-Bildung in der Leber diskutiert (402).

Aus dieser Gegensätzlichkeit ergeben sich im Hinblick auf die Beantwortung dieser grundsätzlichen Frage folgende Fragestellungen:

a) Stellen HVL und Plazenta in mehr oder weniger großer Abhängigkeit voneinander selbständige Produktionsstätten des LTH dar?

b) Kommen außerdem andere Organe, wie z.B. die Leber für die LTH-Bildung in Betracht?

Die Ergebnisse dieser beiden Prüfungen würden eine Beantwortung darstellen auf die weitere Frage:

Findet überhaupt außerhalb der Hypophyse eine Produktion von HVL statt?

Während die erste Frage bezüglich der HVL durch zahlreiche, oben im Zusammenhang beschriebene, Untersuchungen beantwortet ist und der HVL wohl als sichere Produktionsstätte angesehen werden kann, stehen entsprechende Anhaltspunkte, die das gleiche für die Plazenta oder andere Organe bestätigen würden, nicht zur Verfügung.

Wie aus den entsprechenden Untersuchungen hervorgeht, besteht kein Zweifel an der Tatsache, daß die Plazenta unter entsprechenden methodischen Voraussetzungen über LTH-Aktivität verfügt (15, 16, 18, 65, 276).

Nach den Untersuchungen von Astwood und Greep (15) kann angenommen werden, daß es sich bei dem plazentaren "Luteotropin" und dem luteotrophen, gonadotropen Wirkstoff der Hypophyse - dem LTH - um identische Stoffe handelt. Es soll hier von LTH-Aktivität die Rede sein, wenn es sich um den plazentaren Wirkstoff oder andere extrahypophysär gewonnene luteotrophe Stoffe handelt, um nicht unberechtigt eine Identität vorwegzunehmen. Wir glauben mit dieser Definition dem wahren Sachverhalt eher Rechnung zu tragen.

Neben dem HVL und der Plazenta, beides endokrinologisch besonders wichtige Organe, konnte aber in anderen Organen und Geweben LTH-Aktivität nachgewiesen werden.

Im Hypophysenhinterlappen (HVL) fanden einige Untersucher so große Mengen an LTH, daß sie eine Eigenproduktion im HHL für wahrscheinlicher halten als eine einfache postmortale Diffusion von HVL in den HHL (268, 403). Das Endometrium der Stute, Extrakte aus Kuheutern und abgeschnürte Teile des Allantochorions (26) wiesen im biologischen Test eine LTH-Aktivität auf. Aus dem Harn von Wöchnerinnen konnte eine LTH wirksame Fraktion isoliert werden (20, 158, 266), und zwar enthält 1 Liter Urin soviel LTH wie 1,5 g frische Rinderhypophyse. Bis zum 9. Tag post partum findet sich fast regelmäßig eine positive LTH-Aktivität im Urin (238). Trotz fortgesetzter Lactation kommt es dann zu einem langsamen Absinken, sowohl in der Höhe

der Urinwerte als auch in der Milch, da letztere ebenfalls meßbare Mengen an LTH-Aktivität zur Ausscheidung bringt (155). Etwa gleiche Mengen konnten aus dem Schwangerenharn des 9. Graviditätsmonats gewonnen werden (239, 380, 390). Im Gegensatz zu Frauen mit normaler Milchleistung konnte im Urin von Wöchnerinnen mit Hypogalactie keine LTH-Aktivität gefunden werden (195). Wichtig in diesem Zusammenhang ist, daß auch bei Männern im Urin LTH-Aktivität beobachtet wurde (267). Cystenflüssigkeit bei chronischer Mastitis und Extrakte aus Adenomen der menschlichen Brustdrüse enthielten ebenfalls LTH-Aktivität (26).

Während der Nachweis von LTH-Aktivität in den genannten Ausscheidungsprodukten verständlich erscheint, aber keine Rückschlüsse auf den Bildungsort erlaubt, läßt die Feststellung einer LTH-Aktivität in den angeführten Geweben die Ausgangsfrage unter anderen Gesichtspunkten erscheinen. Umsomehr, nachdem Rabald und Voss (402) in der Rinder- und Schweineleber einen Stoff nachweisen konnten, der in seinen chemischen und physiologischen Eigenschaften eine weitgehende Übereinstimmung mit dem im HVL produzierten LTH aufzuweisen hatte.

Mit dieser Feststellung wird neben der Frage einer plazentaren Produktion von LTH die Möglichkeit einer Bildung in der Leber für möglich erachtet und diskutiert.

A r b e i t s m e t h o d e

Auswahl der Tiere, Voraussetzungen:

Aus operationstechnischen und wirtschaftlichen Gründen wurden die Untersuchungen an Ratten durchgeführt. Wir verwendeten reingezüchtete Tiere eines Wistar-Stammes +), um der Forderung einer weitgehenden Homogenität des Tiermaterials zu entsprechen. Die verwendeten Tiere waren gleich alt, standen in einem Gewicht von 180 $\pm$ 21 g. Unterbringung, Pflege und Fütterung war für alle Tiere vollkommen gleichartig. Die Ernährung bestand in einem speziellen, hormonfreien Futter ++).

+) Zuchtanstalt Köln, Bonner Straße.
++) Latz Tierfutter.

Funktionszustand:

Da bei der geschlechtsreifen Ratte ein regelmäßiger Östruscyklus abläuft (am eigenen Material mit Schwankungen zwischen 5-6,5 Tagen) wurden wegen der durchzuführenden Hormonuntersuchungen die einzelnen Tiere entsprechend dem Stadium des vorliegenden Östruscyklus eingeordnet, d.h. es wurden für die einzelnen Untersuchungen nur Tiere des gleichen Cyklusabschnittes verwendet.

Cyklusbestimmung am Testtier:

Die Kontrolle und Bestimmung der jeweilig vorliegenden Funktion ergibt sich aus der Reaktion des Vaginalepithels. Der Kontrollabschnitt erfolgt durch Einführung einer Platinöse in die Vagina des Tieres. Das der Platinöse anhaftende Zellmaterial wird dann auf einem Objektträger ausgestrichen und getrocknet. Nach Färbung mit Methylenblau kann dann das Zellbild ausgewertet werden. Die Einteilung der Zellbilder trafen wir nach dem Schema von Hohlweg (196), wobei die einzelnen Funktionsstadien mit den Ziffern von 0 bis 4 bezeichnet werden (Tab. 1).

In Anlehnung an die Beobachtung, daß die Hypophyse cyklisch östrierender Ratten den höchsten Gehalt an LTH während des Östrus, den geringsten im Metöstrus aufweist (322), wählten wir für unsere Untersuchungen Tiere aus, die sich nach der Abstrichkontrolle im Östrus befanden (Gruppe 3, 3-4, s. Tab. 1, Abb. 1-5).

Die verwendeten Tiere wurden nach Dekapitation ausgeblutet und die Leber in toto entnommen. Unter Berücksichtigung der Empfindlichkeitsgrenze der zur Verfügung stehenden biologischen Testmethoden, auf die unten näher eingegangen wird, und die vermutlich nur geringe Ausbeute eventuell vorhandener LTH-Aktivität wurden in jedem Arbeitsgang 50 g Rattenleber verarbeitet, d.h. die Organe eines funktionell homogenen Kollektivs von durchschnittlich 7 - 10 Tieren.

Chemische Aufarbeitung des Gewebes:

Das frisch entnommene Gewebe wurde unter Vermeidung autolytischer Prozesse nach der Vorschrift von Li und Evans (251), die als sog. Standartmethode gilt, verarbeitet.

> 50 Gramm des frischen homogenisierten Gewebes wurde mit 50 ccm Acetan extrahiert unter Zuführung von 5 ccm 12m HCl, das extrahierte Material dann durch Hinzufügung von 250 ccm Aceton ausgefällt. Die Fällung wird in 10 ccm 50%igem Alkohol gelöst und durch Hinzufügen von 40 ccm Aceton erneut ausgefällt. Die Fällung wird dann in 15 ccm etwa 10%igem Ammoniumhydroxyd gelöst. Diese Lösung bleibt bei Zimmertemperatur 3 Std. stehen, 2 Vol. Aceton wird zugesetzt und falls sich ein Niederschlag bildet, dieser durch Zentrifugieren entfernt. Die überstehende Flüssigkeit wird mit 1 Vol. Aceton und 0,5 ccm 12m HCl gemischt, die Fällung in 10 ccm Wasser gelöst unter Zusatz von 1 m Natriumhydroxyd zur Erzielung einer klaren Lösung. Diese Lösung wird dann mit Hilfe von 1 m HCl auf einen pH von 6,5 gebracht und die entstehende Fällung durch Zentrifugieren entfernt. Die überstehende Flüssigkeit wird auf einen pH-Wert von 5,5 gebracht und einige Stunden bei -15 Grad Celsius stehengelassen. Die Veränderungen des pH-Wertes dienen u.a. der Abtrennung des ACTH-Komplexes. Nach Auftauen wird die Lösung zentrifugiert. Die Fällung wird in leicht alkalischem Milieu gelöst und die letzten Stufen wiederholt, bis das endgültige Präzipitat, das bei pH 5,5 entsteht, sich im elektrophoretischen Versuch als einheitliche Substanz erweist.

Die biologischen Auswertmethoden:

Für die biologische Auswertung stehen zwei verschiedene Reaktionen, der Taubenkropftest und der Säugetiertest zur Verfügung. Beide beruhen auf dem Nachweis einer ziemlich spezifischen proliferationsanregenden Wirkung des LTH auf das Drüsenepithel.

Der Taubenkropftest:

hat sich aufgrund seiner hohen Empfindlichkeit und Spezifität als Routinemethode für die LTH-Auswertung durchgesetzt. Der sog. Säugetiertest wird wegen seiner zahlreichen und erheblichen Nachteile (lange Dauer, zu große Schwankungsbreite, zu große Abhängigkeit vom Einfluß anderer hormoneller Wirkstoffe) heute zumindest bei Routineuntersuchungen nicht mehr ausgeführt.

Prinzipiell handelt es sich sowohl bei der Mamma als auch beim Kropf der Taube um apocrine Drüsensysteme. Das gleichartige Verhalten ist aus diesem Grunde verständlich.

Der Taubenkropftest in seinen zahlreichen Modifikationen geht ursprünglich auf eine Beobachtung von Riddle und Braucher (1931) (332) zurück, daß mit geeigneten HVL-Extrakten eine Epithelproliferation im Kropf der Taube angeregt werden konnte. Nach Überprüfung einzelner Auszüge von Hypophysenextrakten kam man schließlich soweit, diese Epithelproliferation als eine spezifische Reaktion auf die Wirkung von LTH zurückzuführen. Auf eine ausführliche Darstellung der verschiedenen Modifikationen muß zugunsten einer kurzen Charakterisierung verzichtet werden.

Die von Riddle u. Mitarb. angegebene Originalmethode (330) beruht auf der Bestimmung des Kropfgewichtes nach entsprechender Stimulation durch die zu untersuchende Substanz.

Zu exakten Bestimmungen ist diese Methode unseres Erachtens nicht sehr geeignet, weil eine genaue, anatomische Angrenzung der beiden Seitentaschen, deren Gewichtsbestimmung ausschlaggebend ist, nicht hinreichend sicher durchgeführt werden und auf diese Weise zu große Unsicherheit zustande kommen kann.

Dagegen bietet die von Mc Shan und Turner (285) angegebene Methode der minimalen Stimulierung bessere Voraussetzung.

Li und Evans (251) haben gezeigt, daß dieser Test bereits bei der Verwendung von nur 3 Tieren eine routinemäßige Erfassung von genügender Genauigkeit erlaubt, wenn man die minimale positive Reaktion von zwei Tauben als bezeichnend für die Einheit ansieht. Die Auswertung erfolgt durch Überprüfung von Proliferationszeichen der Kropfschleimhaut im durchfallenden Licht nach vorheriger intramuskulärer Applikation der Testsubstanz.

Die Methode der lokalen Stimulierung nach Lyons und Page (266) und Bergmann, Meiters und Turner (32) ermöglicht eine weitere Steigerung der Empfindlichkeitsgrenze.

Die Testsubstanz wird direkt über den Kropf subcutan injiziert. Durch Verteilung der täglichen Injektionsmenge auf

vier Einzelinjektionen pro Tag läßt sich die Empfindlichkeit noch bedeutend weiter steigern, bis etwa auf das Zehntausendfache der intramuskulären Methode. Mit dieser Methode ist es möglich 0,01 Gamma LTH noch als positive Reaktion zu erkennen, während beim Test nach Mc Shan und Turner (285) mindestens 0,1 mg LTH der gegenwärtig reinen Substanzen erforderlich ist, um eine positive Reaktion auszulösen. Weitere Vorteile der Methode sind die Verkürzung der Versuchsdauer von 96 auf 48 Stunden, sowie die Unabhängigkeit der Reaktion vom Körpergewicht des Tieres.

Die eigentliche Auswertung erfolgt durch histologische Untersuchungen des Kropfepithels. Das Material wird nach der Entnahme in Formalin fixiert und nach Paraffineinbettung mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt (Abb. 6-10).

Diese Methode haben wir bei unseren Untersuchungen in allen Fällen zur Anwendung gebracht.

Weitere Methoden, die der Auswertung von LTH-Aktivität am Taubenkropf dienen sollen, wie der Test nach Leblond und Allen (234), der den mitotischen Idex des Kropfepithels als Kriterium für die vorliegende Proliferationstendenz bestimmt und auch die Bestimmung der sudanophilen Zellen (316) konnten nicht weiter an Bedeutung gewinnen und dürften in ihren methodischen Voraussetzungen für exakte Bestimmung auch wohl nicht ausreichen.

Auch die neuerdings von Brown, Woodbury und Sayers (41) zur Auswertung von LTH angegebene Methode, die sich auf die Tatsache gründet, daß der Phosphorgehalt des Kropfes durch LTH erhöht wird, konnte sich bisher nicht durchsetzen. Ob die Bestimmung der Aktivität von injiziertem radioaktivem Phosphor am Kropfepithel hinreichend sicherere Beurteilungsmöglichkeiten verspricht, bleibt offen. Ganz abgesehen von der gefahrvollen und umständlichen Untersuchungsmethodik selbst.

Der Säugetiertest,

bzw. die lokale Methode am Kaninchen oder Meerschweinchen beruht auf der sekretorischen Umwandlung des Drüsenepithels der Mamma durch LTH, wenn zuvor entsprechend durch Östrogene und Progesteron vorbehandelt war. Diese Behandlung mit Sexualhormonen entfällt, wenn man pseudogravide Tiere zum Versuch verwendet. Der Test ist für Routinemethoden ungeeignet und verfügt auch nicht über ausreichende Sicherheit.

Allgemeines zur methodischen Durchführung

Aus den bisherigen Beobachtungen geht hervor, daß die intracutane Methode wegen ihrer hohen Empfindlichkeit für die LTH-Auswertung am geeignetsten ist. Dies trifft besonders dann zu, wenn es sich um die Feststellung von sehr geringen LTH-Mengen handelt. Die Eignung und Spezifität der genannten Methode erfährt auch keine Einschränkung durch die Untersuchungen von Lahr, Bates und Riddle (230), die zeigen konnten, daß eine Reihe von Substanzen (verschiedene Säuren, Alkalien, Galle, Alkohol, Aceton, Histamin, Androsteron) zu einer erhöhten Mitosefrequenz und einer makroskopisch erkennbaren Reaktion der Kropfwand führen können. Wichtig zu wissen ist aber, daß die Wirkung dieser Substanzen erst bei Dosen auftritt, die in Milligrammwerte gehen, während LTH seine Wirksamkeit bereits in Gammawerten zum Ausdruck bringt. Milieubedingte Faktoren, die Umgebungstemperatur, Alter, Rasse, Gewicht, Anzahl und Verteilung sowie Volumen der Injektionen können ebenfalls einen Einfluß auf die Reaktion des Epithels der Kropfdrüse haben. Diese Faktoren fallen jedoch bei der Auswertung nicht ins Gewicht, wenn man unter homogenen Bedingungen gegen ein Standartpräparat testet.

Nach allgemeiner Erfahrung hat es sich als zweckmäßig erwiesen, die jeweils zu injizierende Einzeldosis nicht über maximal 0,5 ccm hinausgehen zu lassen. Dieser methodischen Forderung standen zunächst erhebliche Schwierigkeiten gegenüber, bedingt durch die schwere Löslichkeit der LTH-Substanz. In Anbetracht der Tatsache, daß LTH aus Schafshypophyse in einer 0,357 m

NaCl-Lösung bei pH 2,25 eine Löslichkeit von 0,506 g/l und Rinder-LTH nur von 0,316 g/l aufweist, mußte bei entsprechender Substanz aus der Leber mit ähnlich ungüstigen Löslichkeitsverhältnissen gerechnet werden. Unter diesen Bedingungen würde die Applikation ausreichender Substanzmengen an das Testtier nicht möglich sein, weil zu große Flüssigkeitsmengen hätten verabreicht werden müssen. Ein solches Vorgehen wäre mit einer sorgfältigen Arbeitsweise nicht zu vereinbaren.

Diese Schwierigkeit blieb erspart durch den glücklichen Umstand, daß uns ein Lösungsvermittler zur Verfügung gestellt werden konnte, das nach Angaben der Hersteller +) 1000 I.E. LTH in 5 ccm Lösungsvermittler aufzunehmen vermochte. Einzelheiten über die chemische Beschaffenheit des Lösungsvermittlers standen aus verständlichen Gründen nicht zur Verfügung.

Mit Hilfe des genannten Lösungsvermittlers konnten die aus der Leber gewonnenen Extrakte an der Taube nach der Methode der lokalen Stimulation (266, 32) getestet werden.

Zur Untersuchung verwendeten wir normale Feldtauben im Gewicht von 280 $\pm$ 40 g. Gewisse Alters- und Rasseunterschiede mußten aus äußeren Umständen in Kauf genommen werden. Unter dieser Voraussetzung mußte mit einer größeren biologischen Variabilität gerechnet werden.

E r g e b n i s s e

Es wurde das Lebergewebe von 4 Tiergruppen nach der oben dargestellten Methode von Li und Evans (251) verarbeitet und biologisch nach der Methode der lokalen Stimulation (266, 32) ausgewertet. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen, sowie die dazugehörigen Kontrollen sind aus Tab. 2 zu entnehmen.

Aus der Tab. 2 geht hervor, daß in dem Lebergewebe der verwendeten Tiere LTH-wirksame Substanz vorhanden ist. Die Abweichungen in den einzelnen Reaktionen müssen als Folge der nicht vollständig auszuschließenden biologischen Variabilität aufgefaßt werden.

+) E.R. Squibb u. Sons, New York, 745 Fith Avenue.

Die zu diesen Untersuchungen parallel durchgeführte Kontrolle (Tab. 3) ergab für eine LTH-Aktivität von 0,05 Gamma eine klare positive Reaktion mit Ausnahme des Tieres Nr. 10. Für das negative Ergebnis an diesem Tier können wir keine sichere Begründung angeben. Für die Durchführung der Kontrolle galten die gleichen methodischen Voraussetzungen wie oben, d.h. es wurden ebenfalls gewöhnliche Feldtauben verwendet, die etwa alters- und gewichtsgleich waren.
Vorbehaltlich ausführlicher quantitativer Untersuchungen erlauben die oben mitgeteilten Ergebnisse folgende Feststellung:

Z u s a m m e n f a s s u n g

1.) Nach Aufarbeitung des Lebergewebes von Ratten nach der von Li und Evans angegebenen Methode und biologischer Auswertung durch die lokale Stimulation des Epithels am Taubenkropf nach der Methode von Lyons und Page, Bergmann, Meites und Turner kann eine LTH-Aktivität nachgewiesen werden.

2.) Unabhängig von der Frage einer möglichen Identität mit dem gonadotropen Wirkstoff des HVL-LTH kann angenommen werden, daß die Rattenleber über LTH wirksame Stoffe verfügt.

3.) Eine Kontrolle mit einem LTH-Standart-Präparat unter analogen Bedingungen ergibt für eine Dosis von 0,05 Gamma eine stärkere positive Reaktion, als sie nach Aufarbeitung des Lebergewebes beobachtet werden konnte.

4.) Die LTH-Aktivität der aufgearbeiteten Leber liegt demnach unter einem Wert von 0,05 Gamma LTH. Die Werte beziehen sich auf das verwendete Kollektiv mit einem Gesamtgewicht von 50 g Lebergewebe, etwa 7 - 10 Ratten entsprechend.

Für die weitere Bearbeitung der Frage, ob außerhalb des HVL im Organismus eine LTH-Produktion stattfindet, ist damit zunächst die grundsätzliche Voraussetzung erfüllt, daß in der Leber bei entsprechenden methodischen Voraussetzungen LTH-Aktivität nachzuweisen ist. Diese Feststellung erlaubt jedoch keinen Rückschluß auf die Frage einer möglichen hepatozellulären Produktion von LTH.

2. Das Verhalten der LTH-Aktivität der Leber nach Stimulation.

Fragestellung und Begründung der Versuchsanordnung:

Es ist bekannt, daß der LTH-Gehalt des HVL Schwankungen unterliegt, nicht nur bei den Tierarten, sondern auch innerhalb der gleichen Art in Abhängigkeit von Alter, Rasse, Geschlecht und dem jeweils vorliegenden physiologischen Entwicklungszustand (120).

Vermutlich spielen dabei hormonelle Beeinflussungen eine Rolle, da experimentell durch Zufuhr von Östrogenen eine Zunahme des LTH-Gehaltes des HVL in Abhängigkeit von der Menge der zugeführten Östrogene gefunden werden konnte (287, 322, 159). Richtungsweisend waren Beobachtungen, daß die Hypophyse cyklisch östrierender Ratten den höchsten LTH-Gehalt während des Östrusstadiums zeigten (322). Einzelne Mitteilungen, die über gegenteilige Beobachtungen berichten, also eine Abnahme des LTH-Gehaltes nach Östrogenbehandlung, dürften ihre Ursache wahrscheinlich in quantitativen Verhältnissen bzw. in zu hoher Dosierung der Östrogene haben (153, 403, 439).

Stimulierung des HVL:

Die Angaben über die Stimulierungs- bzw. Hemmungsdosis sind nicht einheitlich. Wolf und Brown (431) und Wolfe (430) zeigten an Ratten, daß kleine Dosen von Östrogenen die Eosinophilen - die Zellen, die als mutmaßliche LTH-Produzenten in Betracht kommen - und die sekretorisch aktiven Chromophoben stimulieren. Diese Ergebnisse konnten von anderer Seite bestätigt werden (133, 134). Als Anhalt mag nach diesen Untersuchungen gelten, daß 0,1 mg Östradiolbenzoat stimulierend wirkt und 5,0 mg einen hemmenden Einfluß auf die Zellbildung im HVL ausübt. Hohlweg wies als Erster auf die Gewichtszunahme der Hypophyse nach Östrogenbehandlung hin (197). Selye, Collip und Thomson bestätigen diese Feststellung (358) und Martin wies nach, daß Hypophysen nach Transplantation in die Augenkammer die Fähigkeit auf Östrogene zu reagieren nicht verlieren (274) und Uotila (395) stellte

fest, daß dieser Wachstumsreiz auch noch nach Durchtrennung des Hypophysenstieles nachweisbar war.

Ob und inwieweit diese Erkenntnisse, die auf morphologischen Feststellungen beruhen, auf das funktionelle Verhalten des HVL - speziell der Produktion von Gonadotropinen - übertragen werden können, läßt sich noch nicht endgültig überblicken.

Es gilt hier die allgemeine Regel, daß kleine Dosen von Sexualhormonen die Aktivität des HVL fördern, große aber hemmend wirken. Die Wirksamkeit der einzelnen Steroide ist dabei verschieden. Wie schon bereits erwähnt, stimulieren die Östrogene die Synthese des LTH (38, 63, 64, 121, 167, 181, 287, 288, 289, 306, 312, 323, 345, 422). Nach Byrnes und Meyer (64) gilt 0,012 mg Östrogen-Substanz als niedrige physiologische Dosis, die eine Stimulierung zur Folge haben kann, während Werte bis zu 0,05 mg bereits als höhere Dosis angesehen werden müssen und zu Stimulierungsversuchen praktisch nicht mehr in Betracht kommen. Greep und Jones (167) fanden eine Menge von 0,166 Gamma als kritische Dosis Östradiol-Benzoat für die Weibchen, eine kleinere Dosis reichte für die Stimulierungszwecke nicht mehr aus und war an Ratten unwirksam.

A r b e i t s m e t h o d e

In Anlehnung an die Erfahrung von Astwood (13) injizierten wir weiblichen Ratten 3mal 20 Mikrogramm Östradiol-Benzoat intramuskulär. Es wurde wie in den vorherigen Untersuchungen homogenes Tiermaterial eines rein gezüchteten Wistar-Stammes verwendet.

Am 4. Tag nach der Applikation von Östradiol-Benzoat wurden die Tiere durch Dekapitation getötet und ausgeblutet.

Gewinnung und Aufarbeitung des Lebergewebes erfolgte in der gleichen Art wie in Versuch Nr. 1 nach der Methode von Li und Evans (251). Das dargestellte Material wurde nach der Methode der lokalen Stimulation von Lyons und Page (266), Bergmann, Meites und Turner (32) am Epithel der Kropfdrüse histologisch untersucht und ausgewertet.

Die Ergebnisse sind in Tab. 4 dargestellt. Die Auswertung erfolgte im Vergleich zur Kontrolle mit einem LTH-Standard-Präparat und zwar gegen die Kontrollgruppe des Versuches Nr. 1 (Tab. 2).

Ergebnisse

Bei unseren Untersuchungen wurde festgestellt, daß die LTH-Aktivität der Rattenleber unter bestimmten Voraussetzungen unterhalb eines Wertes von 0,05 Gamma liegt. Nach Stimulationsversuchen mit Östradiol-Benzoat findet sich in dem untersuchten Material eine stärkere Aktivität als in der nicht behandelten Kontrollgruppe. Nach Stimulation des HVL zu erhöhter Produktion von LTH findet sich auch in der Leber eine stärkere LTH-Aktivität. Diese entspricht nach grober Prüfung etwa der Aktivität, die sich nach Applikation von 0,05 Gamma in der Gruppe des Standard-Präparates feststellen ließ.

Unabhängig von genauen quantitativen Bestimmungen kann aus diesen Beobachtungen abgeleitet werden, daß sich nach Stimulation mit Östradiol-Benzoat eine vermehrte LTH-Aktivität in der Leber nachweisen läßt. Diese ist eindeutig stärker als in einer homogenen Gruppe nicht behandelter Tiere.

Diesen Feststellungen ist zu entnehmen, daß eine Östrogenstimulation die Produktion von LTH aktiviert. Es ist jedoch kein Rückschluß möglich auf den Mechanismus der vermehrten Bildung von LTH, d.h. es ist die Frage noch nicht zu beantworten, ob neben der Hypophyse ein anderes Gewebe an der Produktion von LTH beteiligt ist oder nicht.

Zusammenfassung

1.) Nach Stimulation mit Östradiol-Benzoat findet sich im Lebergewebe der Ratte eine stärkere LTH-Aktivität als bei einer unbehandelten Kontrolle. Es kann somit bestätigt werden, daß Östrogen die LTH-Produktion anzuregen vermag.

2.) Während die LTH-Aktivität einer unbehandelten Gruppe deutlich unterhalb einem Wert von 0,05 Gamma liegt,

entspricht die LTH-Aktivität, die nach Östrogenbehandlung zu verzeichnen ist, etwa einem Wert von 0,05 Gamma LTH des int. Standardpräparates.

3.) Eine Beantwortung der Frage, ob außerhalb der Hypophyse eine Produktion von LTH stattfindet, die ebenfalls auf eine Stimulation reagiert, kann aus den bisherigen Untersuchungen noch nicht gegeben werden.
Die Werte beziehen sich auf ein Kollektiv von durchschnittlich 7 - 10 Tieren mit einem Gesamtgewicht des Lebergewebes von 50 Gramm.

Um die letztere Frage entscheiden zu können, sind daher entsprechende Untersuchungen an hypophysektomierten Tieren erforderlich.

3. In der folgenden Versuchsanordnung wurde die Frage geprüft:

"Hat die Hypophysektomie der Tiere einen Einfluß auf die LTH-Aktivität des Lebergewebes ?"

Unter der Voraussetzung einer exakt durchgeführten operativen Entfernung der Hypophyse ist die von ihr ausgehende LTH-Sekretion als sicher ausgeschlossen anzusehen.

Wir führten die Ausschaltung der Hypophyse nach der parapharyngealen Methode durch, wie sie von P.E. Smith angegeben wurde (410).

Operative Technik:

Durchtrennung der Haut durch medianen Längsschnitt zwischen Jugulum und Unterkiefer. In dem Winkel zwischen Trachea und dem re. Zungenbeinast wird die oberflächliche Halsmuskulatur in der Faserrichtung stumpf gespalten. Am Grund der so entstandenen Lücke sieht man in der Tiefe, daß die tiefe Halsmuskulatur in der Medianen eine deutliche Raphe besitzt. Oralwärts wird die hintere Rachenwand wie ein in querer Richtung ausgespannter Vorhang sichtbar. Dieser wird vorsichtig oralwärts zurückgeschoben und die tiefe Halsmuskulatur von der Schädelbasis caudalwärts abgeschabt. Es gelingt so, die Synchondrosis speno-occipitalis freizulegen. Sie erscheint als bläuliche etwas erhabene Linie, die in querer Richtung über die Schädelbasis verläuft. Wenn die Kreuzungsstelle zwischen dieser Knorpelfuge und der Raphe in genügendem Umfange freigelegt ist, wird mit

einem Haken die Trachea und die hintere Rachenwand schräg nach der linken Seite und oralwärts beiseite gehalten.

Das Einführen eines Glaskatheters zwischen zwei Knorpelringe der Trachea, um dem Tier die Atmung zu ermöglichen, hat sich uns nicht bewährt, da die kapillaren Öffnungen des Glaskatheters zu häufig durch die Schleimabsonderung des Tieres verlegt werden und den Atemweg somit verschließen. Dagegen scheint sich, wie wir uns an anderen Instituten überzeugen konnten, die einfache Tracheothomie zu bewähren. Eine besondere Versorgung der kleinen Stichincisionen, die zwischen zwei Knorpelringen gesetzt wird, ist nicht erforderlich.

Unser Vorgehen gestaltete sich weiterhin folgendermaßen: Mit einem Diamantbohrer wird ein Loch in die Schädelbasis gebohrt, oberhalb der oben beschriebenen Knorpelfuge. Unter technisch einwandfreien Voraussetzungen wölbt sich nach dem Durchbohren der Schädelbasis die Hypophyse als rötlich-weißliche Kugel in das Bohrloch vor. Die Durakapsel wird mit einer feinen Nadel am Bohrlochrand eingerissen. Die Eröffnung der Dura soll breit erfolgen, um die Hypophyse so weit als möglich freizulegen. Die Hypophyse wird dann mit einer Glaspipette, die zweckmäßig an eine Wasserstrahlpumpe angeschlossen ist, abgesaugt. Hat man sich überzeugt, daß die Hypophyse vollständig entfernt ist, wird das Wundgebiet durch Naht verschlossen.

Die von Dyroff angegebene nachfolgende Kaustikbehandlung, wobei nach Absaugen der Hypophyse der Bereich des Hypophysenstieles vorsichtig elektrokoaguliert bzw. verschorft wird, verspricht entscheidende Sicherheit gegen eine evtl. unvollständige Entfernung der Hypophyse. Neben einer höheren Zuverlässigkeit in Bezug auf exakte Entfernung besteht außerdem mehr Sicherheit gegen eine mögliche Nachblutung im Wundgebiet (104), die vor allem dann vorkommt, wenn das Bohrloch zu weit rostral liegt (410).

Ein Urteil darüber, ob die Hypophyse vollständig entfernt wurde, ist mit einiger Sicherheit aus der Kontrolle des Gewichtes (Wachstumsstillstand), der allgemeinen herabgesetzten Vitalität, der fortschreitenden Atrophie der Genitalorgane und der NNR., sowie dem Sistieren des Östruscyklus möglich. Diese klinischen Merkmale sollten nach Möglichkeit durch Sektionsbefunde ergänzt werden. Hier lassen sich unvollständige Operationen bereits makroskopisch erkennen. Die größte Sicherheit besteht jedoch in

einer nachfolgenden histologischen Untersuchung auf eventuell vorhandene Hypophysenreste.

Die allgemein verwendeten geraden Glaspipetten zum Absaugen der Hypophyse aus dem Bohrloch haben wir durch die in Abb. 11 dargestellte Glaskonstruktion ersetzt.

Durch die Zwischenschaltung einer Glaskugel mit seitlich angesetzter Saugöffnung ist nach unserer Erfahrung eine makroskopische Kontrolle der entfernten Gewebsteile ermöglicht. Diese haften infolge der seitlich abgehenden Saugöffnung zunächst der Kugelwand an und können somit kontrolliert werden, wogegen bei gerader Saugpipette die Gewebsteile im Schlauchsystem der Saugpumpe verschwinden.

A r b e i t s m e t h o d e

Ratten eines reingezüchteten Wistar-Stammes in einem Gewicht von 190 ± 21 g wurden nach der oben angegebenen parapharyngealen Methode hypophysektomiert. Sämtliche Tiere standen unter gleichartigen Bedingungen (Unterbringung, Pflege, Fütterung usw.). Die Tiere befanden sich zum Zeitpunkt der Hypophysektomie im Östrusstadium (Stadium 3 nach Hohlweg s. S. 36). 4 Tage nach der Operation wurden die Tiere durch Dekapitation getötet und ausgeblutet.

Die Entnahme und Aufarbeitung des Lebergewebes erfolgte nach den gleichen Bedingungen wie in den vorausgehenden Untersuchungen, d.h. es wurde ein Kollektiv erfaßt mit einer Gesamtmenge von 50 g Lebergewebe, entsprechend etwa 7 - 10 Tieren.

E r g e b n i s s e

Wie aus Tab. 5 zu ersehen ist, konnte in keinem Fall eine positive Reaktion nach der biologischen Testmethode der lokalen Stimulation (266, 32, vergl. S. 38) gefunden werden.

Als Kontrolle galten in diesem Falle die Tiergruppen aus Versuch Nr. 1 (vergl. S. 45), da hier gleichartige

Untersuchungen an nicht-hypophysektomierten Tieren unter analogen Bedingungen durchgeführt wurden. Eine besondere Kontrollgruppe konnte aus diesem Grunde entfallen.

Aus diesen Ergebnissen lassen sich u.E. folgende Schlußfolgerungen ableiten:

Am Vorhandensein an LTH-Aktivität im Lebergewebe kann, wie in Versuch Nr. 1 gezeigt werden konnte, kein Zweifel bestehen. Die Leber enthält unter physiologischen Bedingungen meßbare Werte an LTH. Nach Stimulation an Östrogenen (vergl. Versuch Nr. 2, S. 45) reagiert die Hypophyse mit einer vermehrten Produktion von LTH. Entsprechend der vermehrten Bildung im HVL steigt parallel auch die LTH-Aktivität im Lebergewebe an. Nach operativer Entfernung der Hypophyse und dem damit verbundenen Ausfall der hypophysären LTH-Produktion enthält das Lebergewebe keine LTH-Aktivität. Diese Beobachtung beweist, daß die Leber nicht als LTH produzierendes Organ in Betracht kommt, sondern lediglich befähigt ist, daß in der Hypophyse den jeweiligen physiologischen Funktionszuständen entsprechend produzierte LTH zu speichern bzw. aufzunehmen. Nach Wegfall der Hypophyse und dem damit verbundenen Sistieren der LTH-Abgabe zeigt die Leber keine LTH-Aktivität.

Die einleitend gestellte grundsätzliche Frage nach einer möglichen extrahypophysären LTH-Produktion im Lebergewebe kann aufgrund der vorliegenden Feststellungen damit beantwortet werden. Eine Produktion von LTH in der Leber findet nicht statt.

Diese Beobachtungen beziehen sich auf Tiere, die normale Östruscyklen aufweisen und nicht gravide sind. Beim schwangeren Tier dürften die Verhältnisse durch die zusätzlichen Funktionen der Plazenta wesentlich komplizierter liegen. Auf diese Frage soll in den folgenden Untersuchungen eingegangen werden.

Zusammenfassung

1.) Während des Östrusstadiums hypophysektomierter Tiere enthalten nach biologischer Untersuchung nach der Methode der lokalen Stimulierung (266, 32, vergl. S. 38) keine LTH-Aktivität im Lebergewebe.

2.) Eine Produktion von LTH im Lebergewebe findet nicht statt.

II. T e i l

In den folgenden Untersuchungen wurde die Frage zu klären versucht:

"Findet in der Plazenta, unabhängig von der Hypophyse, eine Produktion von LTH statt?"

Grundsätzliches zur gonadotropen Funktion der Plazenta:

Auf die umfassende physiologische Bedeutung der Plazenta und ihre zahlreichen, endokrinen Funktionen einzugehen, würde den Rahmen dieser Arbeit überschreiten. Die Fragen eines direkten oder indirekten Einflusses auf die Funktion der Gonaden einerseits und ihre Beziehung zur Hypophyse andererseits sind nach verschiedenen Gesichtspunkten untersucht und geprüft worden. Aus der Reihe dieser Untersuchungen ist wohl als eindrucksvollste Feststellung die Tatsache hervorzuheben, daß die Plazenta in mancherlei Hinsicht imstande ist Funktionen auszuüben, die man gewöhnlich der Hypophyse zuschreibt (15, 16, 18, 262). So konnte beobachtet werden, daß die Unterbrechung einer Gravidität nach operativer Entfernung der Hypophyse nicht eintritt, wenn den betreffenden Tieren Plazentaextrakte bzw. -gewebshomogenate verabreicht wurden (18). Nach entsprechenden Untersuchungen konnte das hypophysäre Gonadotropin LTH für diesen Effekt verantwortlich gemacht werden unter Hinweis auf die Fähigkeit, die Funktion des Corpus lut. stimulieren zu können.

Luteotrophe und mammotrope Effekte der Plazenta:

Es ist auf verschiedenen Wegen versucht worden, den Beweis zu führen für die u.E. noch umstrittene Annahme, daß die Plazenta unabhängig von der Hypophyse imstande sein soll LTH zu produzieren. Abgesehen von den teilweise direkt widersprechenden Ergebnissen über den Einfluß der Hypophysektomie auf die Fortdauer einer Gravidität, reichen u.E. auch die Ergebnisse von Mayer u. Canivenc (277) nicht aus für einen überzeugenden Nachweis einer Produktion von LTH durch die Plazenta (s. S. 30).

Die Annahmen dieser Autoren beruhen auf der Beobachtung des mammotropen Effektes des LTH (s. S. 30). Ray, Averill, Lyons und Johnsen (320) sind der gleichen Frage besonders sorgfältig nachgegangen. Wir können einen Teil ihrer Ergebnisse übernehmen und den eigenen Untersuchungen zugrunde legen.

Die genannten Autoren teilen zunächst die grundsätzliche Feststellung mit, daß die Rattenplazenta über LTH-Aktivität verfügt. Während Dosen von 0,03, 0,06, 0,12 und 0,5 g Plazenta im lokalen Stimulationstest (266, 32, vergl. S. 38) negativ reagierten, fanden sich bei 1,0 g Gewebe bereits Grenzwerte. 2 Gramm verursachten eine positive Reaktion am Epithel des Taubenkropfes.

Neben dem Kropfepithel stimulierenden Effekt fand sich bei äquivalenten Dosen ein luteotropher Effekt, zu erkennen an der Verhinderung des Östrusstadiums bei sonst normal cyklisch reagierenden Ratten. Bei diesen Untersuchungen ließ sich gleichzeitig ein mammotroper Effekt feststellen, zu beobachten an einer Proliferationsanregung des Alveolarsystems der Brustdrüse.

Neben dem luteotrophen Effekt besitzt das LTH einen besonderen Einfluß auf das Parenchym der Brustdrüse, einen sog. mammotrophen Effekt.

Die Atrophie des Brustdrüsengewebes, die nach operativer Entfernung der Hypophyse auftritt, kann im wesentlichen den Wegfall der stimulierenden Wirkung der Ovarialhormone zugeschrieben werden, deren Produktion aufhört, weil die Gonadotropine des HVL nicht mehr für eine weitere Bildung zur Verfügung stehen. Neben den östrogenen - und gestagenen - Hormonen ist für das Wachstum und die Differenzierung der Epithelien der Brustdrüse zusätzlich ein hypophysärer Wirkstoff erforderlich, der in direkter, wahrscheinlich spezifischer Wirkung auf die Mamma einwirkt. Diese Feststellung geht zurück auf die Beobachtung, daß bei pseudograviden Kaninchen die Brustdrüse durch wässrige Hypophysenextrakte zur Sekretion angeregt werden konnte (387). Die gleichen Beobachtungen konnten später an Ratten gemacht werden (116) und wurden durch

andere Autoren bestätigt (80). Eindrucksvoller wurden die beschriebenen Wirkungen, nachdem es gelang reine Extrakte herzustellen (263). Diese richtungsweisenden Untersuchungen gewannen schließlich eine wissenschaftlich zuverlässigere Bedeutung, nachdem die entsprechenden Experimente am hypophysektomierten Tier durchgeführt wurden. Es konnte dabei an verschiedenen Tierspezies gezeigt werden, daß die Östrogene und Gestagene des Ovars, gleichgültig ob sie allein oder in Kombination gegeben wurden, nicht imstande waren, am hypophysenlosen Tier einen Wachstumseffekt auszulösen. Die Wirkung der Ovarialhormone scheint demnach an die Anwesenheit der Hypophyse gebunden zu sein(324). Mit weiterer Verbesserung der chemischen Aufarbeitungsmöglichkeiten in einzelne Fraktionen und der schließlichen Reindarstellung hypophysärer Wirkstoffe konnte bewiesen werden, daß neben den Ovarialhormonen das hypophysäre LTH erforderlich ist, um einen Wachstumseffekt und Differenzierung des Drüsenepithels hervorzurufen. Die optimale Funktion setzt eine genau abgestimmte Koordination zwischen Sexualhormonen und der Beteiligung hypophysärer Wirkstoffe voraus. Beide Prinzipien wirken synergistisch histotrop auf das Epithel der Brustdrüse. Die Lactation selbst stellt dabei mehr ein quantitatives Problem dieser Hormone dar (125). Oxytocin scheint ebenfalls einen stimulierenden Effekt auf die LTH-Sekretion des HVL zu haben, wobei es jedoch nicht bewiesen ist, ob eine solche Stimulierung physiologischerweise erfolgt. Eine direkt lactogene Wirkung liegt nachweisbar nicht vor (30).

Die Sekretionsumstellung bzw. Auslösung der Lactation und Inganghaltung sind verschiedene Funktionskomplexe, deren hormonelle Steuerung und funktionellen Vorgänge mit unseren heutigen Erkenntnissen noch nicht zu überblicken sind.

Wie bereits erwähnt, läßt sich an hypophysektomierten und ovarektomierten Tieren die nach der Operation auftretende Atrophie des Brustdrüsengewebes weder mit Östrogenen oder Progesteron, noch in kombinierter Behandlung mit beiden Substanzen verhindern. Dagegen zeigen mit kombinierten Dosen Östrogen/Progesteron vorbehandelte Tiere einen Wachstumseffekt

der Brustdrüse, wenn gleichzeitig Plazentargewebe implantiert bzw. Homogenat injiziert wurde. Da der gleiche Effekt auch mit reiner LTH-Substanz zu erreichen ist, wird angenommen, daß dieser Stoff auch in der Plazenta wirksam ist und auch hier produziert wird.

Wir haben schon in anderem Zusammenhang betont, daß die Nachweisbarkeit von LTH-Wirkung nicht unbedingt von der Produktion in der gleichen Gewebsart abhängig sein muß.

Bei der Untersuchung der LTH-Aktivität der Plazenta zu verschiedenen Zeitpunkten der Gravidität fand sich die höchste Aktivität in der Plazenta am 12. Schwangerschaftstag. Nach genauen Untersuchungen von Lyons (262) und Averill (18) ist die LTH-Aktivität einer Plazenta vom 12. Schwangerschaftstag etwa äquivalent mit 0,01 Gamma des hypophysären LTH. Ohne daß bis heute entsprechende chemische Analysen vorliegen, die eine eventuelle Unterscheidung des hypophysären und plazentaren LTH-Wirkstoffes ermöglichen würden, kann unter Berücksichtigung des biologisch völlig gleichartigen Verhaltens angenommen werden, daß es sich um identische Stoffe handelt. Dyroff weist darauf hin, daß gerade die Identität gegen eine Eigenproduktion der Plazenta spricht, weil sonst infolge einer Rücksteuerung die hypophysäre LTH-Produktion gehemmt werden müßte, was tatsächlich aber nicht zutrifft.

Nehmen wir an, daß der luteotrophe bzw. mammatrope Wirkstoff der Plazenta tatsächlich mit dem hypophysären LTH identisch ist. Diese Vermutung kommt besonders in neueren Arbeiten zum Ausdruck und scheint auch berechtigt zu sein (79). Es bleibt jedoch die Frage offen, ob die Plazenta von sich aus imstande ist, LTH zu bilden, oder ob ihre Funktion nur darin besteht, das hypophysäre LTH vorübergehend anzulagern, um es den jeweilig gegebenen Erfordernissen entsprechend bereit zu stellen bzw. abgeben zu können.

Obwohl eine LTH-Produktion in der Leber verneint werden kann, erscheint uns diese Feststellung nicht ausreichend für die endgültige Beantwortung der Frage, ob eine extrahypophysäre LTH-Bildung stattfindet. Die Untersuchungen wurden aus

diesem Grunde auf die Plazenta ausgedehnt, zumal diesem innersekretorisch bedeutungsvollen Organ die Möglichkeit einer LTH-Produktion nicht von vornherein abgesprochen werden kann.

Versuchsanordnung:

Entsprechend dem Beispiel der Untersuchungen an der Leber (vergl. S. 47) haben wir Untersuchungen an der Plazenta durchgeführt und das Verhalten auf seine LTH-Aktivität nach Ausschaltung der Hypophyse überprüft. Die Untersuchungen wurden an zwei verschiedenen Gruppen durchgeführt, die im Hinblick auf die Fragestellung bestimmte methodische Abweichungen von einander aufweisen.

Arbeitsmethode:

Wie in den Voruntersuchungen wurden Ratten eines reingezüchteten Wistar-Stammes verwendet, wobei die einzelnen Tiere unter analogen Bedingungen standen.

Im Östrusstadium, kontrolliert am vaginalen Zellabstrichbild, wurden die Tiere zugelassen, die eingetretene Konzeption durch den Spermanachweis in der Vagina geprüft und diesen Termin der zeitlichen Schwangerschaftsberechnung zugrunde gelegt.

Hypophysektomie am 8. Schwangerschaftstag:

In der ersten Gruppe wurden gravide Tiere am 8. Tage der Schwangerschaft nach der oben angegebenen Methode (vergl. S. 47) hypophysektomiert. Das ursprüngliche Vorhaben, vier Tage nach der Operation die Plazenten zu entnehmen und auf ihre LTH-Aktivität zu untersuchen, um methodisch annähernd vergleichbare Voraussetzungen zu den Vorversuchen zu haben, konnten wir nicht durchführen, weil nach den ersten Untersuchungen festzustellen war, daß die operierten, graviden Tiere meistens bis zum dritten Tag post op. mit Ausstoßung der Schwangerschaftsprodukte reagierten. Unter Verzicht auf zeitlich homogene Vergleichsbedingungen mit den Untersuchungen

an der Leber, mußten wir uns auf Untersuchungen beschränken, die mit Plazentagewebe durchgeführt werden konnten, das drei Tage nach der operativen Entfernung der Hypophyse gewonnen werden konnte. Zu diesem Zeitpunkt bestand demnach durchschnittlich der 11. Schwangerschaftstag. Die Plazenten haben zu diesem Zeitpunkt nach unseren Erfahrungen ein Gewicht, das zwischen Maximal 253 mg und minimal 82 mg variiert. Für 1 g Plazentagewebe waren durchschnittlich 5 - 8 Plazenten erforderlich. Das homogenisierte Gewebe injizierten wir nach der Methode der lokalen Stimulation (266, 32).

Ergebnisse

Unter den angegebenen Bedingungen konnte am Kropfepithel, trotz der Empfindlichkeit der Methode, keine positive Reaktion festgestellt werden. Da die Resultate einheitlich waren, schlossen wir daraus, daß in der Plazenta vom 11. Tag der Gravidität, wenn die Tiere zuvor am 6. Tag der Schwangerschaft operiert wurden, keine LTH-Aktivität mehr vorhanden war (s. Tab. 6).

Hypophysektomie am 12. Schwangerschaftstag:

Eine zweite Gruppe gravider Tiere wurde am 12. Tag der Schwangerschaft hypophysektomiert. Anlaß zu dieser Überlegung war das Ergebnis früherer Untersuchungen (320), wonach die Plazenta am 12. Schwangerschaftstag über die höchste LTH-Aktivität verfügen soll. Weiterhin sollten eventuelle methodische Mängel, die bei der Auswertung nur einer Gruppe auftreten und zu Fehlurteilen Anlaß geben können, damit ausgeschlossen werden.

Das Plazentagewicht beträgt zu diesem Zeitabschnitt nach unseren Untersuchungen maximal 480 mg und minimal 160 mg. Für 1 g Gewebshomogenat aus Plazenta waren zu diesem Zeitpunkt durchschnittlich 3 - 5 Plazenten erforderlich.

Die Untersuchungen dieser Gruppe wurden unter gleichen Bedingungen an der Reaktion der lokalen Stimulation am Epithel des Taubenkropfes getestet. Nach dieser Methode wurden täg-

liche Applikationen von 3 x 0,2 ccm über drei Tage insgesamt 1,8 g Plazentahomogenat pro Tier injiziert, d.h. eine Gesamtmenge, die unter normalen Bedingungen ausreicht (vergl. S.52), um eine positive Reaktion auszulösen (320).

E r g e b n i s s e

Mit Plazentargewebe von Tieren, die am 12. Schwangerschaftstag hypophysektomiert worden waren und die Plazenten drei Tage nach der Hypophysektomie entnommen worden waren, konnte keine positive Reaktion nach der Methode der lokalen Stimulation ausgelöst werden. Die Ergebnisse waren einheitlich (Zusammenstellung s. Tab. 7).

Kontrolle an graviden, nicht hypophysektomierten Tieren:

Um einen methodischen Fehler bzw. eine mögliche, mangelhafte Reagibilität des Tierstammes auszuschließen, führten wir eine Gegenprobe durch.

Es wurde in einer Gruppe von drei Tieren das Plazentagewebe vom 12. Tag der Schwangerschaft nicht hypophysektomierter Tiere getestet. Hier fand sich bei der lokalen Stimulation in allen Fällen eine eindeutige positive Reaktion. (Zusammenstellung der Ergebnisse s. Tab. 8).

D i s k u s s i o n

Wir sind uns bei der Deutung der Ergebnisse der mannigfaltigen Variabilität und der davon abhängigen möglichen Fehlerquellen, die einem biologischen Versuch anhaften können, bewußt. Wir haben zwar unseren rechnerischen und wirtschaftlichen Möglichkeiten entsprechend versucht, die Mängel auf ein Minimum einzuschränken. Schließlich muß man sich aber bei der physiologischen Deutung bewußt bleiben, daß es sich um die Bewertung biologischer Vorgänge handelt, die von einer Vielzahl unkontrollierbarer Faktoren beeinflußt werden. Unter diesen Gesichtspunkten bedeuten routinemäßig durchgeführte, biologische Untersuchungen, selbst wenn man eine weitgehende Homogenität der Vergleichsserien anstrebt, relativ grobe

Methoden, die sich nur unter besonderen Voraussetzungen zu quantitativen Aussagen verwerten lassen. Trotz dieser Einschränkungen, derer wir uns bewußt sind, glauben wir aber aus unseren Untersuchungen folgende Schlüsse ziehen zu können.

In der Plazenta findet sich LTH-Aktivität in meßbaren Mengen. Da sich im Plazentargewebe von graviden Tieren, die zu verschiedenen Zeitpunkten der Schwangerschaft hypophysektomiert wurden, keine LTH-Aktivität mehr nachweisen läßt, muß angenommen werden, daß das Vorhandensein der Hypophyse unbedingte Voraussetzung für einen positiven LTH-Nachweis in der Plazenta ist. In Fortführung dieser Überlegung kann daher angenommen werden, daß die Plazenta selbst nicht imstande ist LTH-aktive Substanzen zu bilden, sondern vielmehr nur den hypophysär gebildeten gonadotropen Wirkstoff aufnimmt und den jeweiligen Erfordernissen entsprechend weiter verwendet.

Ausgehend von der Beobachtung, daß es beim graviden Tier nach der Hypophysektomie zur Ausstoßung der Schwangerschaftsprodukte kommt, macht Dyroff die kritische Einwendung, daß durch regressive Veränderungen innerhalb der Plazenta, die aber sicher angenommen werden können, die Funktionstüchtigkeit des Gewebes leidet und dementsprechend hochdifferenziert Leistungen, wie in diesem Fall eine evtl. vorhandene LTH-Produktion zum Erliegen kommen kann. Es ist zwar möglich, durch Zufuhr von LTH die Schwangerschaft eines hypophysektomierten Tieres aufrecht zu erhalten und ohne funktionelle Nachteile die normale Tragzeit zu überbrücken. Die Zusammenhänge aufzuklären, bedarf aber noch intensiver, weiterer Untersuchungen. Bis jetzt läßt sich aus den uneinheitlichen Beobachtungen und teilweise fast gegensätzlichen Befunden noch kein klares Bild entwickeln, zumal andere Autoren (79) darauf hinweisen, daß eine Hypophysektomie nach dem 12. Tag der Gravidität keinen Einfluß auf den Fortbestand einer Schwangerschaft haben soll. An unserem Material konnte diese Beobachtung nicht bestätigt werden. Ob gegen Ende der Schwangerschaft bereits eine Kompensation durch die Frucht in Betracht kommt, steht zur Diskussion und wäre noch zu untersuchen. Ob methodische Mängel, wie z.B. unvollständige Entfernung der Hypo-

physe, als Erklärung dieser anderen Untersuchungen in Frage kommen, können wir nicht beurteilen.

Z u s a m m e n f a s s u n g

1.) Die Plazenta von Ratten enthält unter normalen Voraussetzungen eine meßbare LTH-Aktivität. Diese kann im biologischen Test nach der Methode der lokalen Stimulation am Epithel des Taubenkropfes nachgewiesen werden.

2.) Die Plazenta gravider Tiere enthält nach unseren Untersuchungen keine LTH-Aktivität, wenn die Tiere vorher hypophysektomiert wurden.

3.) Das Vorhandensein von LTH-Aktivität in der Plazenta scheint daher an die Gegenwart einer intakten Hypophyse gebunden zu sein.

4.) Die vorliegenden Ergebnisse erlauben mit der obigen Einschränkung die Schlußfolgerung, daß die Plazenta nicht in der Lage ist, von sich aus LTH zu produzieren. Die Feststellungen deuten vielmehr darauf hin, daß die Plazenta lediglich den hypophysären Wirkstoff anlagern kann.

Die eingangs gestellte Frage, ob außer dem HVL in anderen Organen und Geweben eine Produktion von LTH stattfindet, glauben wir unter Hinweis auf die bekannten Mängel, die jeder biologischen Reaktion anhaften, dahingehend beantworten zu können, daß eine extrahypophysäre LTH-Bildung nicht stattfindet.

Wir stützen uns dabei, aufgrund der eigenen Untersuchungen, auf folgende Feststellungen:

1.) In der Rattenleber ist unter physiologischen Bedingungen (Östrusstadium) eine meßbare LTH-Aktivität nachweisbar. Diese liegt, gemessen gegen das int. Standard-Präparat unterhalb eines Wertes von 0,5 Gamma.

2.) Nach Stimulation mit Östradiol-Benzoat wird die LTH-Produktion der Hypophyse angeregt. Dieser gesteigerten

Produktion geht eine stärkere LTH-Aktivität der Leber parallel.

3.) Nach operativer Entfernung der Hypophyse ist in der Leber des Tieres keine LTH-Aktivität mehr nachweisbar.

4.) Nach den Ergebnissen aus 1.) - 3.) ist die Leber demnach nicht in der Lage, selbst LTH zu bilden. Der Nachweis einer LTH-Aktivität in der Leber ist demnach an das Vorhandensein einer intakten Hypophyse gebunden.

5.) Die Plazenta der Ratte enthält normalerweise eine meßbare LTH-Aktivität.

6.) Nach operativer Entfernung der Hypophyse ist in der Plazenta keine LTH-Aktivität mehr nachweisbar. Der Nachweis der LTH-Aktivität ist daher an die Gegenwart einer intakten Hypophyse gebunden.

III. T e i l

Zur Frage der "luteotrophen Wirkung" des Choriongonadotropins

Allgemeines über das Choriongonadotropin (HCG), Vorkommen, chemische und physiologische Angaben:

Die Stoffe, die wir eingangs unter der Gruppe der extrahypophysären Gonadotropine zusammengefaßt haben (s. S. 4) kommen unter physiologischen Bedingungen nur während der Schwangerschaft vor. Unter pathologischen Voraussetzungen finden sich bei Entdifferenzierungsvorgängen des chorealen Gewebes, bei der Blasenmole und dem Chorionepitheliom, sowie bei bestimmten neoplastischen Veränderungen des generativen Gewebes des Hodens.

Es handelt sich hier um das Choriongonadotropin (HCG), durch ihre Entdecker (11) und in älteren Arbeiten auch Prolan genannt.

Chemisch gehört es wegen seines Galaktose- und Hexoaminanteiles im Molekül zur Gruppe der Glucoproteide. Da das HCG-Präparat von Claesson u. Mitarb. kristallisierte und bei der Makroelektrophorese als einzelne Bande wanderte, glaubte man, daß hier das reine und einheitliche HCG vorlag. Die chemische Konstitutionsformel des HCG im einzelnen ist jedoch noch nicht aufgeklärt. Die Analysedaten dieses Glucoproteides galten als die physikalisch-chemischen Charakteristika des HCG, ebenso wie die biologischen Eigenschaften des Präparates als eigene Wirkungen des HCG angesprochen wurden.

Von seinen physiologischen Eigenschaften ist bekannt, daß es praktisch eine ICSH-Wirkung hat und wie dieses der Ausbildung und Erhaltung des Corpus lut. dient, dessen sekretorische Tätigkeit - wie schon erwähnt - unter dem Einfluß des LTH steht. Da die biologischen Wirkungen jedoch nicht mit denen des ICSH völlig identisch sind, wurde das HCG nicht nur im

Hinblick auf seinen Bildungsort, sondern auch wegen seiner biologischen Wirkungen als ein besonderer gonadotroper Wirkstoff angesehen. Die wesentlichsten Unterschiede gegenüber dem hypophysären ICSH bestehen darin, daß das HCG bei intakter Weibchen eine gonadotrope Reaktion mit Corpus luteum-Bildung und Uterusstimulierung bewirkt, was das ICSH nur in viel geringerem Maße vermag, und daß das HCG bei der Untersuchung am hypophysektomierten Tier bei dem gleichen Vielfachen der Minimaldosis einen stärkeren morphokinetischen Effekt auf die Zwischenzahlen im Vergleich mit dem ICSH ausübt (118).

Die Bedeutung des HCG und die eigentliche Rolle, die es im Zusammenwirken der einzelnen Funktionen spielt, ist noch relativ wenig aufgeklärt. Die Tatsache, daß es in der bisher bekannten Form nur beim Menschen, Affen und den Equiden festgestellt werden konnte, schränkt unsere Erkenntnisse ebenso ein wie die Tatsache, daß man sich über den eigentlichen, zellulären Bildungsort, wie über seine physiologische Bedeutung nicht restlos im Klaren ist.

Die bisherigen Untersuchungen deuten darauf hin, daß dem HCG ein luteinisierender Effekt zukommt. Obwohl feststeht, daß es sich strukturell um eine andere Substanz handelt, ist seine Wirkung dem ICSH vergleichbar, d.h. es übt eine luteinisierende Wirkung aus. Dieser Effekt ist anerkannt und jederzeit reproduzierbar. Die praktische Verwendung findet sich in der von Aschheim und Zondek angegebenen Schwangerschaftsreaktion an juvenilen, weißen Mäusen und basiert auf dem Synergismus zwischen dem hypophysären FSH und dem in der Plazenta gebildeten HCG.

Mit der Eigenschaft einer luteinisierenden Wirkung scheint die Bedeutung des HCG jedoch nicht erschöpft zu sein, wie besonders nach neueren Untersuchungen angenommen werden muß.

Nachdem zunächst ein direkter Einfluß des HCG auf die Uterusschleimhaut ausgeschlossen werden konnte (39), lagen genügend Hinweise dafür vor, daß HCG über die Zwischenschaltung des Corpus. lut. wirkt (39, 42). Klinische Untersuchungen

von Bradbury u. Mitarb. (39) führten zu der Annahme, daß HCG die physiologische Aufgabe hat, ein bestehendes Corpus lut. sekretionsfähig zu erhalten, daß es also eine Art luteotrophen Faktor darstellt, der die Ausbildung und Erhaltung des Corpus lut. grav. verursacht. Untersuchungen von Plate (315) wurden ähnlich gedeutet. Demnach soll das HCG sowohl einen luteinisierenden (luteotropen) wie einen luteotrophen Effekt haben, d.h. das HCG würde sowohl eine ICSH-Wirkung wie auch einen LTH-Effekt ausüben, würde damit praktisch zwei synergistische auf das Corpus lut. wirkende hypophysäre Gonadotropine ersetzen können. Diese Überlegung erscheint zunächst nicht ganz unmöglich, wenn man sich an die unabhängige Stellung der Plazenta und ihre vielseitigen hormonalen Funktionen erinnert, die im Interesse der Aufrechterhaltung einer Gravidität, eine weitgehende Unabhängigkeit von der Hypophyse aufweisen bzw. garantieren. Die Tatsache, daß nur große Dosen, nicht aber auch kleine Mengen HCG einen luteotrophen Effekt haben (44), erklärt die zeitliche Übereinstimmung des HCG-Spiegels mit der Aktivität des Corpus lut. grav. (45, 46).

Überblickt man diese Mitteilungen in ihrer Gesamtheit, so besteht kaum Zweifel darüber, daß dem HCG ein luteotropher Effekt zugeschrieben werden darf (45, 45, 416, 353, 354, 190). Der Weg, über welchen der luteotrophe Effekt zustande kommt, ist jedoch noch nicht geklärt.

Bei kritischer Betrachtung der oben mitgeteilten Ergebnisse ist zu bemerken, daß alle Resultate an Frauen gefunden wurden, die über eine intakte Hypophyse verfügten. Damit spielt in die Beurteilung dieser Ergebnisse eine grundsätzliche Fehlerquelle hinein, nämlich das Nichteinkalkulieren eventueller Reaktionen von Seiten der vorhandenen Hypophyse. Bei konsequenter Kritik wäre u.E. eine verläßliche Aussage über eine luteinisierende oder luteotrophe Wirkung - beides hypophysär gesteuerte Funktionen - unter diesen Bedingungen nicht vertretbar. Hinzu kommt, daß nach Wiegand (423) die Möglichkeit besteht, den LTH-Gehalt der Hypophyse durch HCG zu steigern.

Unter Berücksichtigung dieser Feststellungen läßt sich u.E. aus den oben erwähnten Mitteilungen (39, 42, 315) die Vermutung ableiten, daß HCG nicht unbedingt selbst über luteotrophe Eigenschaften verfügt, sondern über die Stimulierung des HVL zu vermehrter LTH-Produktion möglicherweise indirekt luteotroph wirkt, d.h. daß das LTH, wie bewiesen und anerkannt, für die Synthese und Progesteron verantwortlich ist, die Aktivität des LTH jedoch durch HCG positiv beeinflußt werden kann. Dieser Fragekomplex wurde bisher jedoch nicht näher untersucht.

Die physiologische Bedeutung des HCG erscheint demnach bis heute noch nicht restlos geklärt. Es darf als gesichert gelten, daß es einen luteinisierenden (luteotrophen) Effekt hat, nachdem diese Untersuchungen auch an hypophysektomierten Tieren erfolgreich waren (73). Trotz der gleichartigen Wirkungen ist es nicht mit dem hypophysären ICSH identisch, was aus der verschiedenen Reaktion einzelner Tierspezies, der Rückwirkung auf die gonadotrope Aktivität des HVL, speziell der Anregung des HVL zur Produktion von FSH, wozu das ICSH nicht imstande ist, der Resorbierbarkeit und der Abhängigkeit von der Applikationsart, hervorgeht (5, 10, 94, 95, 249).

Für die Applikation ist von Interesse, daß ICSH nach intraperitonealer Injektion bei normalen Tieren eine antagonistische Wirkung gegen andere, gleichzeitig injizierte Gonadotropine besitzt, nicht jedoch beim hypophysektomierten Tier. HCG besitzt diesen antagonistischen Effekt nicht, sondern behält seine synergistischen Eigenschaften im Zusammenwirken mit den anderen gonadotropen Faktoren bei (112, 140, 141). HCG ist außerdem im Gegensatz zu dem hypophysären ICSH auf die Teste von Vögeln unwirksam (10).

Unter Berücksichtigung der bisher vorliegenden Erkenntnisse haben wir versucht, durch experimentelle Untersuchungen und entsprechende biologische Auswertungen die nachfolgenden Fragen zu klären.

Besitzt das HCG luteotrophe Eigenschaften?

Besitzt das HCG einen direkten luteotropher Effekt oder kommt die luteotrophe Wirkung auf indirektem Wege zustande?

Untersuchungen am hypophysektomierten Tier

Arbeitsmethode:

Nach den bisherigen Forschungsergebnissen ist für die Synthese und Sekretion des Progesterons aus dem funktionstüchtigen Gelbkörper der Ratte ein besonderer hypophysärer Wirkstoff mit gonadotropen Eigenschaften erforderlich. Ob und inwieweit die Verhältnisse, die hier im Experiment gewonnen wurden, auf andere Tierspezies oder auf den Menschen übertragen werden können, ist noch nicht zu übersehen. Die Möglichkeit wird jedoch diskutiert, doch läßt sich die Mannigfaltigkeit der Befunde noch nicht in ein übersichtliches System einordnen.
Für die Ratte gilt LTH als luteotropher Faktor. Ohne LTH kommt eine Progesteronsekretion aus dem Ovar nicht zustande. Diese Feststellungen gehen zurück auf Beobachtungen von Evans, Simpson und Lyons (115), Teel (389) sowie Astwood (13) und beruhen auf reproduzierbaren biologischen Untersuchungen. Wir können die Methode der genannten Autoren, den Erfordernissen der hier zu prüfenden Frage entsprechend, modifiziert verwenden. Im Unterschied zur eigenen Versuchsanordnung, dienten die genannten Methoden dem Nachweis von LTH-Aktivität und dementsprechend einem LTH abhängigem luteotrophen Effekt.

Jungen, geschlechtsreifen weiblichen Ratten eines reingezüchteten Wistar-Stammes im Alter von etwa 90 Tagen wurde in Äthernarkose die Bauchhöhle eröffnet und die Uterushörner freigelegt. Durch ein Uterushorn wurden im Abstand von 0,05 cm 3-4 Seidenfäden gezogen und zwar so, daß das Endometrium miterfaßt wurde. Die Faden wurden locker geknotet unter sorgfältiger Vermeidung von Druck auf das Uterusgewebe. Durch die lockere Knüpfung läßt sich eine Verschiebung der Fäden, sowie das Herausziehen beim späteren Präparieren der Uterushörner

verhindern. Die Fäden bleiben 5 Tage in situ und werden erst nach Tötung des Tieres vor der histologischen Aufarbeitung des Materials entfernt. 5 Tage vor der Operation erhielten die Tiere pro Tag 20 Mikrogramm Östradiol-Benzonat und 10 I.E. HCG i.m. injiziert. Diese Dosis ist nach unseren Erfahrungen gut ausreichend, um eine gewisse Follikelreifung mit vorzeitiger Luteinisierung zu bewirken. Am Tage der oben beschriebenen Operation wurde gleichzeitig die Hypophyse operativ entfernt. Vom Tage der Operation an wurden täglich 20 I.E. HCG appliziert für insgesamt 5 Tage. Nach Tötung der Tiere wurde das operierte Unterushorn entnommen, fixiert und histologisch untersucht.

Die Fixation erfolgte, wegen der geringeren Schrumpfungsneigung des Gewebes, in "Lavdowskys Flüssigkeit" (100,0 Formol 40 %, 500 ccm Alkohol, 35 ccm Eisessig, 400 ccm Aqua dest.).

Die entsprechenden Segmente wurde herausgeschnitten und nach 6 ständiger Entwässerung in 2-mal gewechseltem Alkohol über Methylbenzoat (24 Std.) in Paraffin (1 1/1 Std.) eingebettet.

Durch jedes Segment wurden mit dem Bandmikroton Schnittserien gelegt, so daß von jedem Organ Serien von mindestens 200 Einzelschnitten angefertigt wurden. Diese Anzahl erlaubte eine weitgehende und sichere Kontrolle der histologischen Gegebenheiten. Die Färbung erfolgte mit Hämalaun, Gegenfärbung mit Eosin. Ein Gewebsstück aus dem nicht behandelten Uterushorn des gleichen Tieres wurde ebenfalls herausgeschnitten und auf die gleiche Weise histologisch als Kontrolle untersucht.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihen sind in Tab. 9 zusammengestellt.

Die primäre Mortailität der Tiere ist bei dem zweifachen Eingriff und der ausgedehnten Belastung durch die Operation verständlicherweise sehr hoch. Da außerdem einige Tiere wegen fraglicher Vollständigkeit der Hypophysektomie ausgeschlossen werden mußten, ist die Gesamtzahl der verwendeten Tiere entsprechend gering ausgefallen.

Ergebnisse der histologischen Untersuchungen:

In den histologischen Bildern der Operationspräparate fand sich weder im Bereich der durchgezogenen Fäden, noch in der Umgebung ein morphologisches Zeichen, das als Progesteroneffekt hätte gewertet werden können. Das Endometrium zeigte die üblichen Strukturen in Stroma und Epithel. Im Vergleich zur gesunden, nicht behandelten Seite waren keine Differenzen der Zellstrukturen zu beobachten. Damit können wir bereits sagen, daß unter den Bedingungen des sog. "Deziduomtestes", wie er bei- und durchgeführt wurde, keine Kriterien für eine luteotrophe Wirkung des applizierten HCG vorlagen. Nach autoptischen Befunden bestanden bei allen Tieren zum Zeitpunkt der Untersuchungen zahlreiche, frische Gelbkörper in den Ovarien. Es muß angenommen werden, daß diese durch den Wegfall der hypophysären Stimulation, insbesondere durch das Fehlen des sekretionsauslösenden Faktors LTH, nicht fähig waren, Progesteron zu synthetisieren bzw. zu sezernieren.

Abstrichkontrolle aus der Vagina:

Der Zellabstrich aus der Vagina zeigte keine Muzifizierung, demnach also keinen Progesteroneffekt.

Histologische Reaktion des Brustdrüsenepithels:

Die mikroskopischen Bilder des Brustdrüsengewebes ließen keine besonderen Veränderungen erkennen. Anzeichen für eine epitheliale Proliferation lagen in keinem Falle vor.

D i s k u s s i o n

Die vorliegenden Untersuchungen wurden nach der Methode des sog. Deziduomtestes durchgeführt.

Das Prinzip dieses biologischen Testes beruht auf der Eigenschaft des Endometriums der Ratte und der Maus, einen traumatischen Reiz des Uterus mit einer lokalen Reaktion des Endometriums zu beantworten.
Diese Stromaumwandlung hat sich als eine spezifische Reaktion

auf Progesteron erwiesen und kann durch höhere Östrogendosen verhindert bzw. unterbrochen werden (310). Cortison (I) (Compound E), Hydrocortison (II) (Compound F) und ACTH (III) hemmen die Progesteronwirkung (Deziduomtest). 11-Desoxycorticosteron (IV) hat keinen Einfluß auf die Reaktion. Allein appliziert hatte keine der Substanzen I - III eine Wirkung auf die Deziduomentwicklung. Die Befunde zu IV sind durch die progestionale Eigenwirkung erklärt (398).

Neben der Rolle als Nachweisreaktion für Progesteron findet diese biologische Methode Bedeutung für die Bestimmung luteotropher Effekte, da diese indirekt durch qualitative und quantitative Veränderungen der Progesteronsekretion erfaßt und bestimmt werden können (95, 96).

Der Test ist ziemlich empfindlich und weitgehend spezifisch. Die Angaben über die unteren Empfindlichkeitsgrenzen schwanken und sind von Labor zu Labor verschieden aufgrund zahlreicher biologischer Varianten, der unterschiedlichen Milieubedingungen und der abweichenden Technik.

Wir sind dabei, durch ausreichende quantitative Untersuchungen für das eigene Labor, eine Empfindlichkeitsgrenze zu ermitteln mit dem weiteren Ziel, den für den LTH-Nachweis erforderlichen Taubenkropftest durch eine verläßliche, quantitativ auswertbare Methode an der Ratte zu ersetzen (328).

Die Technik der experimentellen Deziduomerzeugung geht auf Loeb (260) zurück, der durch Einbringen von Glasperlen in das Uterushorn von Meerschweinchen unter bestimmten Voraussetzungen Geschwülste vom histologischen Bau des mütterlichen Plazentaanteiles hervorrufen konnte. Zugleich erbrachten diese Untersuchungen den ersten Beweis einer sekretorischen Funktion des Corpus luteum. Zum Verständnis der nachstehend geschilderten Methode noch einige den histologischen Aufbau des Deziduoms betreffende Hinweise.

Methodisches zum Deziduomtest:

Der aus zwei Hörnern bestehende Rattenuterus ist durch eigene, den Lig. lata des Menschen vergleichbare Peritonealduplikaturen, die zugleich die Rolle eines Blut- und Lymphgefäßes zu- und abführende Mesometriums übernehmen, an den seitlichen Beckenwandungen befestigt.

Unter dem, das Perimetrium darstellenden, serösen Überzug befindet sich das Myometrium, welches aus einer äußeren longitudinalen und einer inneren zirkulären Schicht glatter Muskelfasern besteht. Ihm folgt nach innen zu das Endometrium, das aus Stroma und Epithel besteht. Letzteres bildet gleichzeitig die Grenze zum Uteruslumen. Die äußeren, längsverlaufenden Muskelfasern des Myometriums bedecken nicht bloß die innere zirkuläre Schicht, sondern sind auch noch in dem unmittelbar anschließenden Teil der Peritoneal-Duplikatur anzutreffen. Während der normalen Schwangerschaft, aber auch bei der Entwicklung eines Deziduomes kommt es an der Übergangsstelle des Peri- in das Mesometrium in einem von der zirkulären Muskelschicht gebildeten Feld zu einer eigenartigen Zellwucherung. Salye und Mc Keown (360) sprechen dieser Zellwucherung die Bedeutung eines innersekretorischen Organes vom holokrinen Typ zu.

Die wesentliche Veränderung vollzieht sich aber im Endometrium. Nach seiner mechanischen Reizung, Ritzung oder Durchziehen eines Fadens, nimmt im antimesometrialen eine Proliferation der lumennah, subepithelial gelegenen Stromazellen, ihren Anfang. Möglicherweise spielen auch zirkulatorisch bedingte, funktionelle Vorgänge in diese Entwicklung hinein (Dyroff). Diese Zellen differenzieren sich dann zu dezidualen Zellformationen. Der Vermehrungs- und Wachstumsvorgang ist ein derart ungestümer, daß eine die Wand durchsetzende, das Uteruslumen praktisch verschließende, Geschwulst resultiert. Etwa am 5. Tag nach dem Trauma erreicht das Deziduom das Maximum seiner Differenzierung. Die Zählung und Beurteilung der Zellen sollte daher immer zu diesem Zeitpunkt erfolgen. Das Deziduom beginnt, unabhängig von der Verletzungsstelle, immer im antimesometrialen Schleimhautanteil. Anschließend wird die restliche, näher dem Mesometrium liegende, Schleimhaut von der Reaktion ergriffen. Die zeitliche Reihenfolge der Veränderungen in den verschiedenen Gewebspartien wird immer genau eingehalten. In der gleichen Reihenfolge vollzieht sich die Rückbildung, die etwa am 15. Tag nach dem Trauma beendet ist.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Die vorliegenden Untersuchungen ergeben, daß HCG unter den gekennzeichneten Bedingungen keinen luteotrophen Effekt hat, d.h. eine direkte Einwirkung auf das vorhandene, funktionstüchtige Corpus luteum mit dem Resultat einer Sekretion

von Progesteron scheint nicht vorzuliegen. Eine direkte Einwirkung auf das strukturelle Zellbild des Endometriums scheidet, wie aus den Ergebnissen hervorgeht, ebenfalls aus.

Die Ergebnisse können auch folgendermaßen schematisch dargestellt werden (s. Tab. 10).

Untersuchung der luteotrophen Wirkung des HCG am nicht hypophysektomierten Tier.

Übersicht und Fragestellung:

Nach den vorausgehenden Untersuchungen ist nicht anzunehmen, daß HCG einen direkten Effekt auf die Funktion und morphologische Struktur des Endometriums hat. Der gleichen Überzeugung waren bereits Bradbury u. Mitarb. (39) aufgrund ihrer klinischen Beobachtungen. Würde eine direkte Beeinflussung des HCG auf das funktionelle Verhalten und den strukturellen Aufbau der Schleimhaut bestehen, hätten sich entsprechende morphologische Merkmale verifizieren lassen müssen. Die erwähnten klinischen Untersuchungen (39) machen es wahrscheinlich, daß das HCG in direktem Einfluß über das Corpus lut. wirkt. Die Ansicht, daß HCG das Corpus luteum zur Produktion von Progesteron anregt, wird auch von anderen Autoren vertreten (4). Anlaß zu dieser Vermutung gab die Möglichkeit mit HCG die Corpus luteum-Phase verlängern zu können mit einer parallel laufenden deziduaähnlichen Umwandlung des Stroma und gleichzeitig nachweisbare, vermehrte Pregrandiolausscheidung im Urin, sowie die Möglichkeit durch Applikation von hohen Dosen HCG bei der Frau den Zustand der sog. Pseudogravidität erzeugen zu können. Die Tatsache, daß HCG unmittelbar vor Eintritt der Menstruation gegeben, d.h. zu einem Zeitpunkt, wo sich der Gelbkörper bereits in physiologischer Rückbildung befindet, keinen Verschiebungseffekt der Menstruation mehr auslöst, unterstützt die Annahme, daß HCG nur unter Zwischenschaltung des Corpus luteum seine Wirksamkeit entfalten kann. Unter geeigneten Voraussetzungen ist man heute imstande, einen Gelbkörper über mehrere Wochen funktionstüchtig zu erhalten und

die Menstruation, die unter normalen Verhältnissen als das Ergebnis des Progesteronentzuges aufgefaßt werden kann, entsprechend weit hinauszuschieben.

Die Rückschlüsse, die man aus diesen Beobachtungen abgeleitet hat, haben zweifellos ihre Berechtigung. Dennoch scheinen die Dinge nicht so einfach zu liegen, wenn man die Ergebnisse der oben erwähnten, experimentellen Untersuchungen betrachtet. Die Voraussetzung, daß in den Ovarien funktionstüchtige Corpus lut. vorhanden waren, war in allen Fällen gegeben, dennoch trat nach HCG-Applikation am Erfolgsorgan keine entsprechende Reaktion auf. Daraus muß geschlossen werden, daß weitere Voraussetzungen erfüllt sein müssen, um einen entsprechenden Effekt auszulösen.

Alle Beobachtungen deuten vielmehr darauf hin, daß in diesen funktionellen Abläufen die Hypophyse eine besondere Rolle spielt. Diese Frage ist der Gegenstand der folgenden Untersuchungen.

Arbeitsmethode:

Um der Forderung einer weitgehenden Homogenität gerecht zu werden, wurden für den folgenden Versuch Tiere des gleichen Zuchtstammes ausgewählt, die in Alter, Gewicht und physiologischen Voraussetzungen geeignet erschienen. Es handelt sich um Tiere des gleichen reingezüchteten Wistar-Stammes, der in allen anderen, bisher mitgeteilten Untersuchungen verwendet wurde. Unterbringung, Wartung usw. waren für alle Tiere gleich. Die Tiere wurden mit einem hormonfreien Futter ernährt.

Vorbehandlung:

Die Vorbehandlung bestand in einer täglichen Injektion von 10 I.E. HCG und 20 Mikrogramm Östradiol-Benzoat in Sesamöl i.m. für insgesamt 5 Tage und entsprach damit der gleichen Dosis, wie sie in Versuch Nr. 5 zur Anwendung kam.

Operation und Nachbehandlung:

Nach dieser Behandlung wurden die Tiere in Äthernarkose operiert. Dabei wurden, wie in Versuch Nr. 5, in ein Uterushorn Seidenfäden eingezogen im Abstand von 0,5 cm (Technik der Operation s. S. 69). Das besondere Merkmal dieses Versuches besteht darin, daß im Gegensatz zu Versuch Nr. 5 auf eine operative Entfernung der Hypophyse verzichtet wurde. Die Tiere dieser Versuchsreihe standen demnach während der Behandlung unter dem Einfluß der eigenen, intakten Hypophyse.

Die weitere Behandlung bestand in der Applikation von täglich 20 I.E. HCG i.m. für weitere 5 Tage. Der Uterus wurde dann entnommen. Die von Seidenfäden durchgezogenen Segmente des einen Uterushornes und eine Kontrolle der gesunden (nicht operierten) Seite wurden herausgeschnitten und in Lavdowsky'-sche Flüssigkeit (Zusammensetzung s. S. 66) fixiert. Nach entsprechender Verarbeitung wurde das Material geschnitten, gefärbt und histologisch untersucht (Methodische Einzelheiten s. S. 66).

E r g e b n i s s e

Makroskopische Veränderungen:

Bei der makroskopischen Inspektion fällt bereits eine segmentartige Verdickung des operierten Uterushornes auf. Die Gewebsverdickungen befinden sich an den Stellen, an denen die Fäden durch die Uteruswand gezogen worden waren.

Mikroskopische Veränderungen:

Mikroskopisch findet sich eine deutliche großzellige Umwandlung des Stroma. Dabei liegen die Zellen wabenförmig angeordnet in einem rel. lockeren Verband. Der allgemeine Aufbau zeigt einwandfreie deziduale Strukturen (Abb. 13-16). Das eigentliche Lumen des Uterushornes mit seiner zylinderepithelialen Zellauskleidung ist durch die starke Stromaentwicklung fast verdrängt und komprimiert. Im wesentlichen sieht man rundliche, mehr blasige Zellkerne. Im Zentrum, offensichtlich

an der Stelle der stärksten lokalen Reaktion, sind die Zellkerne besonders groß. In rel. gleichmäßigem Übergang nehmen die Zellen nach der Peripherie zu an Größe ab und schließlich finden sie reaktionslose Formen, wie man sie unter normalen Bedingungen beobachten kann und wie sie sich auch an den Kontrollschnitten aus dem Gewebe des nicht behandelten, zweiten Uterushorn finden (Abb. 14).

Veränderungen am Epithel der Brustdrüse:

Im Gegensatz zu den Ergebnissen in Versuch Nr. 5 fanden sich hier an der Mamma eindrucksvolle morphologische Veränderungen. Das Gangsystem und das Epithel der Drüsenläppchen zeigte deutliche Proliferation des Epithels, einhergehend mit einer starken Ausbreitung des Drüsengewebes (s. Abb. 17-22).

Veränderungen im Zellabstrich aus der Vagina:

Das Vaginalepithel, das zur weiteren Kontrolle mituntersucht wurde, zeigte eine Schleimreaktion, demnach das histologische Substrat des cytologisch kontrollierbaren Diöstrusstadiums. Letzteres setzt eine Progesteronwirkung voraus (s. Abb. 1). (Stadium O nach der Einteilung von Hohlweg, s. Tab. 1). Die Ergebnisse im einzelnen sind der Tab. 11 zu entnehmen.

D i s k u s s i o n

Aus den vorliegenden Befunden geht hervor, daß HCG, wenn es einem hypophysektomierten Tier appliziert wird, keinen luteotrophen Effekt auslöst.

Nach Wegfall der Hypophyse verlieren die vorhandenen Gelbkörper die Fähigkeit Progesteron zu synthetisieren bzw. zu sezernieren. Diese Feststellung geht auf voneinander unabhängige Beobachtungen mehrerer Autoren zurück (13, 115).

Da unter den gegebenen Voraussetzungen, wie sie Versuch vgl. S.70 zugrunde liegen, keine Progesteronwirksamkeit am Endometrium festgestellt werden konnte, so läßt sich u.E. der Schluß zu,

daß HCG keinen direkten luteotrophen Effekt hat, auch

nicht über die Zwischenschaltung eines Corpus luteum zur Wirkung kommt, wenn die Hypophyse des jeweiligen Tieres vorher operativ entfernt wurde.

Alle Ergebnisse deuten bei logischer Betrachtung auf eine besondere Bedeutung der Hypophyse hin. Diese Annahme wird durch die Ergebnisse aus Versuch Nr. 5 bestatigt.
Gleichzeitig damit findet die eingangs gestellte Frage ihre Beantwortung dahingehend, daß HCG keinen direkten luteotrophen Effekt hat, sondern nur auf indirektem Wege über die Hypophyse wirken kann.

Z u s a m m e n f a s s u n g

1.) Am HCG und Östrogen vorbehandelten Tier, das zum Zeitpunkt der Hypophysektomie über funktionstüchtige Corpus lutea verfügt, ist HCG nicht imstande luteotroph zu wirken, d.h. die vorhandenen Corpus lut. zur Sekretion von Progesteron anzuregen. Die entsprechenden biologischen Reaktionen verliefen negativ.

2.) Die negativen Ergebnisse des Deziduomtestes besagen, daß HCG weder direkt auf das Endometrium mit strukturellen Veränderungen des Zellbildes, noch über die vorhandenen Gelbkörper zur Wirkung kommt. Demnach wirkt HCG nicht direkt luteotroph.

3.) HCG zeigt am Tier mit intakter Hypophyse bei gleichzeitigem Vorhandensein funktionstüchtiger Gelbkörper einen luteotrophen Effekt, kontrollierbar an der Deziduombildung.

4.) Die Anwesenheit der Hypophyse ist für einen luteotrophen Effekt erforderlich.
HCG wirkt demnach über die Hypophyse indirekt luteotroph.

Nachweis der indirekten, luteotrophen Wirkung des HCG durch biologische Progesteron-Aktivität am Hooker - Forbes - Test

Die oben mitgeteilten Ergebnisse gehen auf die Auswertung des sog. "Deziduomtestes" zurück. Die Reaktion, die unter verschiedenartigen methodischen Voraussetzungen, d.h. einmal bei operativ entfernter, im anderen Fall bei vorhandener, intakter Hypophyse nachzuweisen waren, stehen sich ziemlich eindeutig gegenüber, so daß trotz der rel. geringen Anzahl ein entsprechender Rückschluß auf die unterschiedlichen physiologischen Vorgänge erlaubt ist.

Wir haben die Erfahrungstatsache berücksichtigt, daß ein biologischer Nachweis, selbst unter sorgfältiger und mehtodisch exakter Ausführung des jeweiligen Testes immer eine Anzahl biologischer Varianten einschließt, die das Ergebnis erheblich beeintrachtigen und die Zuverlässigkeit der Auswertung einschränken können. Aus diesem Grunde haben wir den Nachweis der indirekten, über die Hypophyse laufenden Wirkung des HCG auch unter anderen biologischen Voraussetzungen geprüft.

Arbeitsmethode:

Auswahl der Tiere:

Es wurden 5 - 6 Pfund schwere, weibliche Kaninchen verwendet. Die Tiere gehörten dem gleichen Stamm an und waren reingezüchtet. Schwangerschaften waren durch die isolierte Unterbringung der einzelnen Tiere vorher sicher ausgeschlossen.

Vorbehandlung:

Die Tiere erhielten 5 Tage pro Tag 1 Injektion von 50 I.E. HCG i.m.

Pseudogravidität und Corpus luteum-Aktivität:

Es ist bekannt, daß die sterile Kopulation, sowie die

Zuführung männlicher Tiere alleine, ohne daß es zum Deckakt kommt, die elektrische Reizung der Cervix, sowie die Applikation von HCG zur Ovulation beim Kaninchen führt. Man spricht bei diesen Voraussetzungen auch von induzierten Ovulationen. Dieser Vorgang dient im sog. Friedmann Test auch zum Nachweis von HCG im Urin und wurde früher als Schwangerschaftsreaktion benutzt. Dieser Effekt ist außer mit HCG hormonell nur mit ICSH zu erreichen. Von Bedeutung ist dabei, daß dieses Verfahren zur Bestimmung von HCG differentialdiagnostische Bedeutung haben kann. So ist es möglich, die gonadotrope Wirksamkeit des Urins zu differenzieren und zwar zur Abgrenzung einer schwangerschafts- oder klimakterisch bedingten, vermehrten Ausschüttung von Gonadotropin. Im ersten Falle würde es sich um eine dem ICSH vergleichbare Wirkung handeln mit Ovulationseffekt und Corpus luteum-Bildung. Im zweiten Fall würde die Friedmann'sche Reaktion negativ verlaufen, d.h. aufgrund der überwiegenden FSH-Wirkung wäre am Ovar nur eine Follikelreifung, jedoch keine Corpus luteum-Bildung zu erwarten.

Trotz der biologisch vergleichbaren Wirkung von HCG und ICSH bestehen aufgrund der unterschiedlichen chemisch-physikalischen Eigenschaften beider Wirkstoffe Differenzierungsmöglichkeiten, auf die bereits hingewiesen wurde (vergl. S. 64).

Ein auf die Wirkung eines der oben genannten Reize zustandekommendes Corpus luteum scheint, wie man bisher annehmen kann, keine aktive Sekretion von Gelbkörper-Hormon zu verursachen. Irgendwie scheint in allen Fällen ein Stimulans zu fehlen, das, wie im Falle der Schwangerschaft, für die Aufrechterhaltung des Corpus luteum verantwortlich ist. Eine echte Pseudogravidität verdankt ihren Bestand einer verstärkten LTH-Abgabe aus dem HVL. Der durch exogenes Progesteron erzielte pseudogravide Zustand ist ganz unabhängig von dem augenblicklichen individuellen LTH-Spiegel.

Chemische Aufarbeitung des Blutes zur Darstellung von Progesteron.

Nach 5 tägiger Behandlung von täglich 50 I.E. HCG i.m. wurden die Tiere ausgeblutet und das Blut mit Na-Citrat (3,8 %ige Lösung) ungerinnbar gemacht.

Für die chemische Bestimmung von Progesteron in organischen Substraten ist eine Ausgangsmenge von 50 ccm erforderlich.

Wir haben zunächst versucht, durch Herzpunktion die notwendige Blutmengen zu gewinnen, konnten aber weder auf diese Weise noch nach vorhergehender Heparinisierung des Blutes die erforderliche Menge gewinnen. Aus diesem Grunde mußten die Tiere ausgeblutet werden.

Die chemische Aufarbeitung nach der von Zander und Simmer angegebenen Methode (439), die eine Modifikation der von Butt beschriebenen Anleitung darstellt, durchgeführt.

Das mit Na-Citrat (3,8 %ige Lösung) oder Na-Oxalat (1%ige Lösung) im Verhältnis 1:10 ungerinnbar gemachte Blut wird zentrifugiert. Das abpipettierte Plasma (bis zu 35 ccm) oder das Blut direkt (bis zu 50 ccm) wird mit der 5-fachen Mengen eines Äthanol-Äthergemisches (3:1 v/v) extrahiert. Dazu wird das Blut bzw. Plasma unter mechanischem Rühren im Verlauf von 1/2 Stunde bis zu 1 Stunde in das Äthanol-Äthergemisch eingetropft. Dieser Arbeitsgang erfolgt immer unmittelbar nach der Entnahme des Blutes. Anschließend läßt man noch etwas 10 Min. weiterrühren. Nach 10 Min. Zentrifugierens bei 2000 bis 3000 Umdrehungen wird die überstehende Flüssigkeit durch Dekantieren abgetrennt. Der Rückstand wird zweimal mit der halben Menge des anfangs verwandten Äthanol-Äthergemisches gewaschen und wieder zentrifugiert. Das Präcipitat muß dabei gut durchgerührt werden. Die vereinigten Extrakte werden im Vakuum auf ein Volumen von etwa 3 - 5 ccm eingeengt. Der eingeengte Extrakt wird mit 40 ccm Wasser verdünnt. Die wässrige Lösung wird 3mal mit je 60 ccm Essigester extrahiert. Die vereinigten Essigesterextrakte werden über Na-Sulfat getrocknet. Nach Filtrierung wird der Essigesterextrakt im Vakuum bei einer Wasserbadtemperatur unter 50 Grad zur Trockne eingedämpft. Der Rückstand wird in einer Gesamtmenge von 10 ccm 70 %igem wässrigem Methanol in 4 bis 5 Portionen bei einer Temperatur von 40-50 Grad in einem Dewar-Gefäß stehengelassen. Die so ausgefällten Lipide werden in der Kälte durch 10. Min. langes Zentrifugieren bei 3000 bis 12000 Umdrehungen abgetrennt. Falls keine hochtourige Kältezentrifuge zur Verfügung steht, kann die Zentrifugierung in einer gewöhnlichen Zentrifuge erfolgen. Das Zentrifugieren wird dann mit einer besonderen Halterung in einen größeren Zentrifugenbecher gestellt und mit einer Kälte-

mischung umgeben. Bei einer Anfangstemperatur von -15 Grad steigt die Temperatur nach 10 Min. Zentrifugierens bei 3000 Umdrehungen auf -5 Grad bis -6 Grad an. Die überstehende Flüssigkeit wird durch Dekantieren abgetrennt und mit 20 ccm Wasser verdünnt. Anschliessend wird sie 3mal mit je 30 ccm leichten Petroläther (35 - 45 Grad) extrahiert. Bei geringen Verunreinigungen werden die vereinigten Petrolätherextrakte bis auf etwa 1 ccm im Vakuum eingeengt und in ein Mikrokälbchen überführt. Darin wird weiter bis auf etwa 0,2 ccm eingeengt und diese Menge direkt auf das Filterpapier aufgetragen oder in Sesamöl zu biologischer Testierung verwendet.

Mit Hilfe der chromatographischen Methode gelang es uns nicht eindeutig den Nachweis von Progesteron im peripheren Blut der vorbehandelten Tiere zu führen. Es mußte daher angenommen werden, daß im Blut kein Gelbkörperhormon vorhanden war bzw. nur so geringe Mengen, daß sie durch chemische Darstellungsmethoden nicht ermittelt werden konnten.

Wir sind daher dazu übergegangen, die nach der Zander-Simmer'schen Methode gewonnenen Extrakte nach Auflösung in Sesamöl biologisch zu untersuchen und zwar im sog. "Hooker-Forbes-Test". (205)

Biologischer Progesteron-Nachweis im "Hooker-Forbes-Test".

Dieser Test erlaubt den Nachweis von Progesteron-Aktivität von noch 0,0002 Gamma in einem Volumen von 0,0006 ccm Sesamöl und gilt allgemein als sehr spezifisch.

Spezifität des Hooker-Forbes-Testes:

Zur Kontrolle der Spezifität dieser biologischen Reaktion wurde eine große Reihe von Substanzen geprüft, die nahezu alle biologisch aktiven Steroidhormone, sowie zahlreiche der sog. Metaboliten und "precursor Substanzen" sowie Stoffe enthielt, die chemisch-strukturelle Ähnlichkeit mit Progesteron aufzuweisen hatten (206). Abgesehen vom Progesteron ergab sich nur bei Pregnandion und Allopregnandion eine positive Reaktion bei intrauteriner Applikation, allerdings, und das ist von Bedeutung, erst in einer 30 000 bis 60 000 fachen Konzentration. Bei der Überprüfung von 1) dem Progesteron chemisch ver-

wandter Substanzen (440) fand sich bei dem 19-Nor-Progesteron, 17-ß-Hydroxyprogesteronacetat und dem 17-α -Hydroxyprogesteron eine progesteronähnliche, biologische Aktivität. Aus diesen Beobachtungen wurde die Vermutung abgeleitet, daß gewisse Beziehungen zwischen der Einführung einer OH-Gruppe am C-17-Atom und einer biologischen Aktivitätssteigerung zu bestehen scheinen. Von Interesse ist dabei, daß diese Substanzen eine deutliche Speziesabhängigkeit im Vergleich zum Progesteron aufweisen. So hat das 17-α -Hydroxyprogesteron wenig oder gar keinen gestativen Effekt am Kaninchen oder dem Menschen, obgleich es sich an der Maus nahezu 60 mal aktiver als das Progesteron verhält (346).

Wie uneinheitlich die Ergebnisse liegen, geht aus einer Mitteilung hervor, wo bei der Untersuchung von Progesteron-Derivaten über einen "antiluteinisierenden Effekt" des 19-Nor-Progesterons berichtet wird (272). Man kann daraus entnehmen, daß die Frage der Spezifität des Testes noch nicht völlig geklärt zu sein scheint, zumal von einigen Autoren mit chemischen Methoden die Ergebnisse der mit dem Hooker-Forbes-Test durchgeführten Untersuchungen im Blut nicht bestätigt werden konnten (179, 61). Überblickt man die Reihe der untersuchten Substanzen, so darf gesagt werden, daß die geprüfte Gruppe von Stoffen diejenigen Substanzen enthält, die nach unseren heutigen Erkenntnissen besonders als mögliche Fehlerquelle in Betracht kommen könnten. Von allen Kontrollen war aber nur bei Progesteron eine typische Reaktion nachweisbar.

Solange die Frage der absoluten Spezifität nicht sicher entschieden ist, empfiehlt es sich, die im Test ermittelten Konzentrationen nicht direkt auf Progesteron zu beziehen, sondern von "Hooker-Forbes-Aktivität" zu sprechen, die objektiv einer bestimmten Progesteron-Konzentration entsprechen soll (216).

Technik des Hooker-Forbes-Testes:

Die äthernarkotisierten Tiere (Mäuse) liegen in Rückenlage auf dem Operationstisch. Die Bauchhöhle wird durch Medianschnitt eröffnet, die Darmschlingen durch einen kleinen Tupfer

nach dranial weggedrangt. Auf diese Weise werden die beiden, gabelförmig auseinanderstrebenden Uterushörner, die der hinteren Bauchwand anliegen und durch ein Mesometrium beweglich fixiert sind, sichtbar. Am cranialen Ende des einen Uterushornes wird eine Ligatur gelegt und festgeknüpft. Im Abstand von etwa 5 mm caudal von der ersten Ligatur wird eine zweite Ligatur gelegt, die zunächst noch nicht festgeknüpft wird. Die im Mesometrium verlaufenden Gefäße dürfen nicht verletzt werden. Auftretende Blutungen machen das Tier zum Versuch ungeeignet. In das durch die zwei Ligaturen gekennzeichnete Segment wird nun die zu testende Substanz injiziert. Die Application erfolgt mit einer Mikrometerspritze, die eine Applikation von 0,0006 ccm erlaubt. Erforderlich ist eine sehr feine Kanüle, die zunächst in das abgebundene Segment und nach der Injektion des meist in Sesamöl gelösten Stoffes langsam unter Knüpfung der caudalen Ligatur wieder herausgezogen wird. Da die Uterushörner der hinteren Bauchwand anliegen, ist es meistens erforderlich, die Ligaturen etwas anzuziehen, so daß der Uterus auf diese Weise angehoben wird. Die Fäden werden dann gekürzt. Man soll sie nicht zu kurz abschneiden - wegen der besseren Orientierungsmöglichkeit beim späteren Herauspräparieren. Die Bauchwunde wird dann durch Einzelnähte verschlossen.

Wir haben in den eigenen Untersuchungen die Operationsmethode, wie sie Hooker und Forbes angegeben haben, modifiziert.

Eigene Modifikation der Operationstechnik des Hooker-Forbes-Testes:

Angeregt durch die Erfahrung bei der Ovarektomie bei Mäusen und Ratten verzichteten wir auf die Eröffnung der Bauchhöhle durch einen Medianschnitt. Die Tiere wurden in Äthernarkose in normaler Bauchlage auf dem Operationstisch fixiert. Nach Anfeuchtung und Jodierung läßt sich das Fell in genügender Ausdehnung wegdrängen, so daß sich ein für die Incision ausreichender Hautbezirk sauber darstellen läßt. Nach Jodierung wird etwa in Höhe des Beckenkammes in der Mitte einer gedachten Verbindungslinie zwischen Wirbelsäule und dem oberen Rand des Beckenkammes eine kleine Stichincision gesetzt und auf diese Weise die Haut durchtrennt. Die oberflächliche und tiefe Rückenmuskulatur läßt sich ohne besondere Schwierigkeiten stumpf trennen. Blutungen treten im allgemeinen dabei nicht auf. Die Länge der so gesetzten Wunde beträgt im allgemeinen 0,5 - 0,8 cm. Nach Durchtrennung des Peritoneums an der Rückenseite läßt sich der Uterus an dem jeweiligen Horn

mit einer anatomischen Pinzette ohne Schwierigkeiten hervorholen. Die erste Ligatur wird an das obere Ende des Uterushornes, aber unterhalb der Pinzette gelegt und festgeknüpft. Man gewinnt so einen Fixpunkt und kann das Uterushorn weiter hervorluxieren und bewegen. Dabei ist keine besondere Anspannung des Mesometriums erforderlich und kann vermieden werden. Es kann nun die zweite Ligatur gelegt werden. Über den Rücken des Tieres legt man einen schmalen, sterilen, mit physiologischer Kochsalzlösung angefeuchteten Tuchstreifen, auf dem das herausgehobene Uterushorn ausgebreitet werden kann, ohne daß eine besondere Lageveränderung erforderlich ist. Die Injektion kann nun erfolgen und wird in der oben beschriebenen Technik durchgeführt. Der Verschluß der Wunde nach Reponierung des Uterushornes erfolgt mit 1 - 2 Einzelnähten (s. Abb. 23-28).

Mit dieser von uns modifizierten Technik glauben wir gegenüber der von Hooker und Forbes angegebenen Methode folgende Vorteile zu gewinnen.

1.) Die Tiere sind einem wesentlich geringeren operativen Eingriff ausgesetzt, da keine breite Eröffnung der Bauchhöhle notwendig ist.

2.) Bauchorgane und besonders der Darm werden nicht belastet, da durch die Operation keine Verdrängung erforderlich wird.

3.) Das Uterushorn läßt sich ohne wesentlichen Zug und ohne Anspannung des Mesometriums vorlagern, weil die Schnittrichtung unmittelbar über der topographischen Lokalisierung der Uterushörner liegt.

4.) Die nachfolgende Injektion ist technisch einfacher durchzuführen, weil das Uterushorn auf einer sterilen Unterlage gelagert werden kann und besser zu fixieren ist. Damit scheidet eine übermäßige instrumentelle Belastung des Uterus aus.

5.) Durch die relativ kleine Wunde besteht geringere Wundkomplikation und weniger Verwachsungsmöglichkeiten.

6.) Die Lokalisation der Wunde ist gegen Kratzeffekt und Verschmutzung weitaus besser geschützt, als eine lange Bauchwunde.

Ein sicher zu erwartendes Argument gegen unsere Methode wird darin bestehen, daß eine Testierung an beiden Uterushörnern einen doppelten Eingriff erforderlich macht und die genannten Vorteile dementsprechend wieder geringer werden. Dieser Einwendung wäre vorsorglich entgegenzuhalten, daß wir im Gegensatz zur gewöhnlichen Methode (305) den Progesteronnachweis nur an einem Uterushorn durchführen, um das nicht operierte Horn als physiologisches Vergleichsobjekt reserviert zu wissen, zumal eine Reaktion außerhalb des Segmentes oder am anderen Uterushorn bereits bei Injektion von 0,003 Gamma Progesteron eintreten kann. Außerdem ist u.E. eine Kontrolle der Gegenseite erforderlich, weil durch das Einführen der Injektionsnadel zwangsläufig kleine Verletzungen gesetzt werden, die durch Blutungen oder reaktive Gewebsvorgänge Alterationen verursachen, die zu Fehldeutungen Anlaß geben können.

Histologische Bearbeitung des Materials:

48 Stunden nach der Applikation der zu untersuchenden Substanz werden die Tiere getötet und der Uterus in tot herauspräpariert. Die Fixierung des Gewebes erfolgt für 24 Stunden in Lacdowska Flüssigkeit (Zusammensetzung s. S. 66). Die weitere Verarbeitung besteht in 6 stündigen Entwässern in 2mal gewechseltem Alkohol. Die Einbettung erfolgt über Methylbenzoat (24 Std.) in Paraffin (1 1/2 Std.). Die Segmente werden dann am Serienmikrotom aufgeschnitten und mit Hämalaun und Eosin gefärbt. Die einzelnen Segmente wurden mindestens in 250 Einzelschnitte aufgeschnitten, um eine weitgehend sichere Kontrolle der jeweiligen Reaktion zu haben.

Auswertung des Testes

Grundsätzliche Voraussetzungen:

Der biologische Nachweis von Progesteron erfolgt nach Hooker und Forbes durch die histologische Auswertung der Reaktion der Stromazellkerne des Endometriums einer kastrierten Maus. Die Tiere müssen mindestens vor 16 Tagen kastriert sein und dürfen nur bis zum 38 Tag post castrationem für quantitative Untersuchungen verwendet werden (125), weil das Stroma andometrii zu einem späteren Zeitpunkt auf eine Progesteronapplikation mit einer wesentlich stärkeren Reaktion antwortet und die Ergebnisse dämit unzuverlässig werden.

Diese Beobachtungen wurden bisher nicht näher begründet. Wir halten es nicht für unwahrscheinlich, daß eine gewisse Zeit nach der Kastration eine kompensatorische Wirkung der Nebennierenrinde infrage kommt, zumal hier die Produktion von progesteronähnlichen Stoffen als gesichert gelten darf. Diesbezügliche Beobachtungen kann man an Mäusen und Ratten machen, die kurz nach der Geburt ovarektomiert werden. Bei diesen Tieren setzt im späteren Leben eine Östrogenproduktion ein, die von der Nebennierenrinde ausgeht und ausreichend ist für eine nahezu normale Ausbildung des Genitaltraktes (432, 433).

Histologische Kriterien des negativen Testergebnisses:

Im ovarektomierten Tier sind die Kerne der Stromazellen schmal, mehr spindelförmig und ziemlich dicht gelagert. Sie enthalten rel. große Chromatingranula. Ein Nucleolus ist nicht sicher zu beobachten (Abb. 30 u. 31).

Histologische Kriterien des positiven Testergebnisses:

Auf Progesteroneinfluß reagiert das Stroma mit einem deutlichen Größerwerden der Stromazellen. Diese Zellreaktion steht in gewissen Grenzen in Abhängigkeit von dem Zeitraum zwischen Ovarektomie und der Progesteronbehandlung (vergl. S. 83), der Dosis, der applizierten Progesteronmenge und der Behandlungsdauer.

Die nach der Kastration geschrumpften Zellkerne werden größer und rundlicher, die Kernmembran ist zart, die Nucleolen heben sich scharf und dunkel ab. Das vorhandene Chromatin ist locker in kleine Partikelchen angeordnet und gleichmäßig verteilt (Abb. 32-35).

Die weniger veränderten Kerne sind nicht so stark vergrößert und mehr bläschenförmig im Vergleich zu den ovarektomierten Kontrollen. Die weniger vergrößerten Zellkerne sind mehr rundlich. In der Intermediärzone lassen sie die deutliche Tendenz erkennen, ebenfalls rundliche Formen anzunehmen. In allen Fällen ist es so, daß die epithelialen Stromazellen die deutliche Veränderung aufweisen, während die basal gelegenen Zellkomplexe eine weniger ausgeprägte Reaktion zeigen. Die progesteronbedingte Erhöhung der Mitosefrequenz scheint dagegen in allen Zellschichten gleichmäßig stark vorhanden zu sein.

Bei der Deutung gibt es Täuschungsmöglichkeiten. Die Injektion der Vehikelflüssigkeit, im allgemeinen das Sesamöl, macht u.U. bereits eine Reaktion. Sie soll die Progesteronwirkung aber nicht potenzieren. In derartigen Fällen sind die Kerne vergrößert, oft eiförmig, das Chromatin ungleichmäßig verteilt, der Nucleolus hebt sich nicht heraus. Das Bild ist vom progesteronstimulierten Zellkern sicher abgrenzbar.

Es gilt die Forderung, daß mindestens ein Kern im Segment positiv sein muß.

Erfahrungsgemäß findet man in einem solchen Falle auch noch weitere positive Kerne. Eine Abstufung der Reaktion ist nicht möglich. Ein Test ist positiv oder negativ. Die Anzahl der positiven Zellkerne steht nicht in einem verwertbaren Verhältnis zur zugeführten Progesteronmenge.

Einfluß der Östrogene auf die Reaktion:

Östrogene haben keinen Einfluß auf den strukturellen Aufbau des Stroma. Ihre charakteristische Reaktion besteht darin, daß sie einen proliferativen Einfluß auf das Epithel ausüben

und eine ödematöse Auflockerung des Endometriums bedingen (207, 208). Die Reaktion des Epithels ist weniger typisch und gewinnt auch für die Auswertung keine besondere Bedeutung.

Die auf Östrogene zu beziehende morphologische Veränderung des Epithels mit Zunahme der Zellgröße, Ovalwerden der Zellkerne und die zunehmende Verschleimung, wobei die Zellkerne mehr in Drüsenlumina wandern, soll nach neueren Untersuchungen auch auf Progesteronbehandlung hin zu beobachten sein (428). Behandlungsdauer und die erforderliche Progesterondosis stehen aber einer routinemäßigen Auswertung dieser Merkmale entgegen, so daß die Reaktion in ihrer ursprünglichen Form keine Einschränkung hat (Abb. 36).

Die epithelialen Zellen sind in der Form schärfer gezeichnet, die Kerne werden mehr rundlich und haben die Neigung in das Zentrum zu wandern. Die Drüsen des Endometriums werden größer, zahlreicher und auch deutlicher im Vergleich zu den Kontrollen. Häufig, jedoch nicht immer, findet sich eine zunehmende Vaskularisierung und allgemeine Hyperämie des Gewebes.

Einfluß der Androgene auf die Reaktion:

Androgene Substanzen verursachen eine leichte Hypertrophie, die sich aber gegen den Progesteroneffekt gut abgrenzen läßt. Die Kerne der Stromazellen gewinnen eine mehr unregelmäßige faltige Form und das Endometrium erfährt im ganzen eine stärkere fibröse Umwandlung. Auf diese Weise kann die Applikation von Androgenen mit Hilfe morphologischer Kriterien von der typischen Progesteronwirkung differenziert werden.

Z u s a m m e n f a s s u n g

Zusammenfassend kann man daher sagen, daß Progesteron am Endometrium einer kastrierten Maus eine charakteristische Hypertrophie und Strukturumwandlung der Stromazellkerne verursacht. Den gleichen Vorgang kennen wir als physiologische Reaktion bei der Umwandlung des Stromas in deciduale Zellformen, wenn infolge einer Gravidität eine vermehrte Progesteron-

beeinflussung stattfindet. Die Vergrößerung und strukturelle Umwandlung des Stroma, kann daher als eine Art Index für die Aktivität und Funktion des Corpus luteum Verwendung finden.

Unabhängig von diesen Erkenntnissen konnten von uns (1950 ähnliche Vorgänge in deutlicher cyklischer Abhängigkeit von der jeweiligen Hormonbeeinflussung durch umfangreiche cytologische Messungen am menschlichen Endometrium gefunden werden (325, 326). Wir stellten an der Uterusschleimhaut der Frau eine progesteronabhängige, continuierliche Größenzunahme der Stromazellen fest und konnten diese Veränderung als Kriterium zur Phasenbestimmung sowie zur Diagnostik pathologischer Zustandsbilder ausbauen.

Bestimmung der geringsten, "wirksamen" Menge:

Wir bestimmten zunächst an unserem reingezüchteten Tierstamm (Mäuse) die geringste wirksame Menge mit 0,0003 Gamma in einem Volumen von 0,0006 ccm Sesamöl. Von 27 Tieren zeigten unter diesen Bedingungen 23 Tiere eine positive Reaktion im Stroma endometrii. Den Grund für die negative Reaktion der restlichen vier Tiere dürfte zum Teil jedenfalls auf technische Mängel bei der Durchführung der Operation zurückzuführen sein. So kann es z.B. durch unsachgemäße Unterbindung von Gefäßen im Mesometrium leicht zu Blut- und Lymphstauungen kommen, die dann durch Zirkulationsbehinderung und Ernährungsstörungen nekrotische Veränderungen hervorrufen (Abb. 37). Nur ein geringer Anteil stellt Versager dar, wofür die biologische Ursache nicht geklärt werden konnte. Da bei einer weiteren Verdünnung auf 0,00015 Gamma in einem Volumen von 0,0006 ccm Sesamöl von 12 Tieren nur 2 eine zweifelhaft positive Reaktion aufwiesen, haben wir von der Untersuchung einer größeren Tierreihe Abstand genommen. Es konnte daher angenommen werden, daß die geringste wirksame Progesteronmenge in einer Verdünnung von 0,0003 Gamma in einem Volumen von 0,0006 ccm Sesamöl liegt und hier die Reaktionsgrenze bzw. der Schwellenwert für eine positive Reaktion an unserem Tiermaterial zu suchen ist. Die Feststellung eines unteren Schwellenwertes für eine positive

Reaktion wurde unter Verwendung eines standardisierten Progesteronpräparates (Reinsubstanz) durchgeführt. Auf eine statistische Sicherung mußten wir verzichten, da keine größeren Tiermengen zur Verfügung standen.

Biologische Progesteronbestimmung im Kaninchenblut nach Vorbehandlung mit HCG

In einer ersten Untersuchungsreihe wurde das Blut von Kaninchen, die mit einer einmaligen Applikation von 50 I.E. HCG i.m. vorbehandelt waren, untersucht. Die Blutentnahme erfolgte 36 Stunden nach der Injektion, da erfahrungsgemäß nach einer induzierten Ovulation um diese Zeit bereits mit frischen Gelbkörpern gerechnet werden kann. Es hat sich bei uns bewährt, das Blut des jeweiligen Tieres vor der Entnahme zu heparinisieren, da es gelegentlich Schwierigkeiten macht, bei der starken Gerinnungsneigung die erforderliche Menge von mindestens 50 ccm zu gewinnen. Von einem Einfluß des Heparins auf die Ovarialsteroide ist nichts bekannt, so daß die Versuchsanordnung durch diese Maßnahme keine Einschränkung erleidet. Das ungerinnbar gemachte Blut wurde nach der Methode von Zander und Simmer (vergl. S. 77) verarbeitet und die Extrakte biologisch nach der Methode von Hooker und Forbes untersucht. Die Ovarien der jeweiligen Tiere wurden histologisch untersucht, um auch morphologisch das Vorliegen frischer Gelbkörper zu sichern.

E r g e b n i s s e

Unter den angeführten Voraussetzungen war im Hooker-Forbes-Test keine positive Reaktion festzustellen. Jede Untersuchung wurde mindestens an drei Tieren durchgeführt. Als positiv gewertet wurde die Reaktion nur dann, wenn mindestens 2 Tiere die entsprechenden geweblichen Veränderungen im Stroma aufwiesen.

Es muß daraus geschlossen werden, daß die Corpus lut., die auf Stimulierung mit HCG entstanden waren, keine Funk-

tionstüchtigkeit aufwiesen, d.h. daß sie keine aktive Sekretion von Progesteron leisteten.

Es ist demnach anzunehmen, daß eine einmalige Injektion von HCG - in diesem Falle 50 I.E. i.m. - zwar ausreicht, um beim Kaninchen eine Ovulation mit Ausbildung frischen Corpus lut.-Gewebes zu induzieren. Dieses Gewebe aber scheint nicht in der Lage zu sein, Progesteron zu sezernieren.

Durch das Fehlen an weiterer Stimulierung zur Aufrechterhaltung bildet sich dieses Gelbkörpergewebe offensichtlich wieder zurück ohne seine eigentliche Funktionstüchtigkeit erreicht zu haben. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Tab. 12 zusammengestellt.

Z u s a m m e n f a s s u n g

1.) Am eigenen reingezüchteten Mäusestamm wurde die untere Empfindlichkeitsgrenze gegen Progesteron im Hooker-Forbes-Test bei einer Verdünnung von 0,0003 Gamma in einem Volumen von 0,0006 ccm Sesamöl festgestellt. Die Reaktion galt als positiv, wenn die typische Umwandlung des Stroma mindestens in 2 von 3 Tieren des Versuches zu beobachten war.

2.) Corpora lutea beim Kaninchen, die auf eine durch HCG induzierte Ovulation zurückzuführen sind, scheinen nicht funktionstüchtig zu sein, d.h. sie sind nicht imstande Progesteron zu sezernieren, zumindest nicht in einer Menge, die biologisch faßbar wäre.

Biologische Progesteronbestimmung im Kaninchenblut nach mehrtägiger HCG - Vorbehandlung

Bei einer anderen Tiergruppe wurde die Vorbehandlung insofern modifiziert, als 5 Tage je 50 I.E. i.m. gegeben wurden. Die weiteren Untersuchungen wurden entsprechend den oben angegebenen Richtlinien (vergl. S. 77) durchgeführt.

Ergebnisse

Von insgesamt 6 Tieren, die nach dem oben erwähnten Schema behandelt waren, wurde das Blut entnommen und nach der Methode von Zander und Simmer (vergl. S. 77) aufgearbeitet. Die 16 Tage zuvor kastrierten Mäuse wurden nach der von uns angegebenen Technik operiert (vergl. S. 80) und die zu testende Substanz jeweilig in die einzelnen Uterussegmente injiziert. Die operierten Tiere wurden 48 Stunden nach dem Eingriff getötet, der Uterus herauspräpariert und in Lavdowsky'scher Flüssigkeit (Zusammensetzung s. S. 66) fixiert, dann eingebettet und geschnitten (Verarbeitung s. S. 66).

Die Ergebnisse sind in Tab. 13 zusammengestellt. Kontrollschnitte aus den Ovarien ergaben in allen Fällen eine starke Luteinisierung und eine kräftige Entwicklung des interstitiellen Gewebes. Soweit aus den morphologischen Gegebenheiten Rückschlüsse auf das funktionelle Verhalten erlaubt sind, kann angenommen werden, daß es sich in allen untersuchten Fällen um funktionstüchtige Corpus lut. handelte.

Diskussion

Wenn man die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen vergleicht, so ist zu erkennen, daß bei einmaliger Injektion von HCG zwar eine Corpus lut.-Bildung im Ovar zustande kommt, daß aber trotz der großen Empfindlichkeit des Hooker-Forbes-Testes keine positive Reaktion am Uterus nachweisbar ist. Daraus kann abgeleitet werden, daß das auf diese Weise entstandene Corpus lut.-Gewebe kein Progesteron sezerniert. Histologisch findet sich frisches Gelbkörpergewebe. Erfahrungsgemäß ist es nicht möglich aus dem morphologisch vorliegenden Momentanbild irgendwelche verläßliche Kriterien für die Beurteilung der Funktion ableiten zu wollen.

Dagegen ergeben die Reaktionen, die nach mehrtägiger HCG-Behandlung auftreten, in der Mehrzahl der untersuchten Fälle (s. Tab. 13) ein positives Ergebnis. In diesen Beispielen liegt eine für den Hooker-Forbes-Test typische Umwandlung

des Gewebes vor. Da aus anderen Untersuchungen bekannt ist, daß HCG keine direkte Wirkung auf das Endometrium hat (vergl. S. 69) darf angenommen werden, daß durch die Fortführung der Behandlung eine Stimulation gegeben ist, die für die Aufrechterhaltung und die Fähigkeit des Corpus luteum zur Abgabe von Progesteron verantwortlich ist.

Über welchen Weg dieser Mechanismus abläuft, läßt sich aus den vorliegenden Untersuchungen noch nicht sagen. Da berechtigte Vermutung besteht, daß die Hypophyse in die Funktion dieser luteotrophen Wirkung eingeschaltet ist, haben wir versucht, diese Frage zu klären.

Biologischer Nachweis von Progesteron im Kaninchenblut nach Vorbehandlung mit HCG und LTH.

Für die Beantwortung der Frage, ob die Hypophyse auch beim Kaninchen für das Ingangkommen und die Aufrechterhaltung eines luteotrophen Effektes verantwortlich zu machen ist, wären entsprechende Untersuchungen an hypophysektomierten Tieren notwendig. Die entsprechenden Untersuchungen scheiterten bisher noch an der erheblichen technischen Schwierigkeit der Hypophysektomie beim Kaninchen. Diese Tiere sind von Natur aus für diesen Eingriff wenig geeignet und überstehen die sehr schwere Operation nur selten. Selbst bei geübten Operateuren und unter besten technischen Voraussetzungen muß mit einer primären Mortalität von etwa 80 % gerechnet werden. Dabei ist zu berücksichtigen, daß von den überlebenden Tieren ein nicht unerheblicher Teil noch wegen unvollständiger Entfernung der Hypophyse ausscheidet. Der Prozentsatz der wirklich versuchstechnisch geeigneten operierten Tiere ist aus diesen Gründen sehr gering.

Es war infolgedessen notwendig, einen anderen Weg zu suchen, um zur Beantwortung dieser Frage zu kommen.

Arbeitsmethode und Vorbehandlung:

In der Annahme, daß der eigentliche hypophysäre, luteotrophe Wirkstoff - LTH - irgendwie an den Stimulationsvorgängen beteiligt sein könnte, haben wir Tieren, die mit nur einer HCG-Injektion vorbehandelt waren und, wie wir zeigen konnten, nicht mit einer aktiven Sekretion von Progesteron reagieren, zusätzlich LTH in einer Dosis von 50 I.E. i.m. 24 Stunden nach der Applikation von 50 I.E. HCG i.m. injiziert.

Ergebnisse

Bei 6 auf diese Weise vorbehandelten Tieren konnte in 5 Fällen eine positive Reaktion bzw. Hooker-Forbes-Aktivität nachgewiesen werden (s. Tab. 14). Die Verarbeitung des Blutes und die Aufarbeitung des Gewebes erfolgte unten den gleichen Bedingungen wie in den Voruntersuchungen.

Diskussion

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe zeigen, daß in dem Augenblick, wo der hypophysäre Wirkstoff LTH - der als luteotropher Wirkstoff angenommen werden kann - zugeführt wird, die Synthese bzw. die Sekretion von Progesteron durch das Ovar ingang kommt.

Vergleicht man die Ergebnisse, so stehen sich die Daten aus Versuch Nr. 8 (vergl. S. 87) mit denen, wo unter gleichartigen Voraussetzungen mit einer Injektion von 50 I.E. HCG i.m. vorbehandelt wurde, zusätzlich aber 50 I.E. LTH i.m. substituierende zugeführt wurden, eindrucksvoll gegenüber.

Diese Beobachtungen erlauben den Schluß, daß LTH unter entsprechenden Voraussetzungen auch beim Kaninchen die Funktionsfähigkeit der Gelbkörper anzuregen vermag, erkenntlich an dem positiven Nachweis von Hooker-Forbes-Aktivität.

Betrachten wir nun die Ergebnisse aus Versuch Nr. 9 (vergl. S. 88). Hier wurden die Untersuchungen durchgeführt nach einer 5 tägigen Behandlung mit HCG. Hier sind im Gegen-

satz zu Versuch Nr. 8 (vergl. S. 87) positive Reaktionen nachweisbar. Es besteht demnach Anlaß zu der Vermutung, daß die Corpus luteum aktiv sezernieren und gestagene Substanzen (Progesteron) an das Blut abgegeben haben.

Da weder eine direkte Einwirkung auf die Erfolgsorgane, insbesondere auf das Endometrium vorliegt (s. S. 69), noch eine direkte Beeinflussung des Ovars angenommen werden kann (vergl. S. 69) - diese Feststellungen sind experimentell fundiert - bleibt nur die Möglichkeit, einen indirekten Effekt über die Hypophyse anzunehmen. Dieser Annahme liegt die Beobachtung zugrunde, daß bei operativ entfernter Hypophyse keine Progesteronsekretion erfolgen kann, wegen der nicht vorhandenen luteotrophen Stimulation. Wenn wir nun, wie aus Versuch Nr. 10 (vergl. S. 91) hervorgeht, durch Substitution von LTH eine positive Hooker-Forbes-Aktivität, die nach heutigen Erkenntnissen mit hinreichender Wahrscheinlichkeit dem Progesteronnachweis identisch sein dürfte, nachweisen können und andererseits bei verlängerter Applikation von HCG (vergl. Versuch Nr. 9 S. 89) den gleichen Effekt auslösen können, so erscheint es uns möglich, daß durch die anhaltende Versorgung mit HCG eine Stimulation des HVL erfolgt mit dem Ergebnis einer Anregung zur Produktion von luteotrophem Wirkstoff.

Daß diese Vermutung berechtigt ist, glauben wir umso mehr als Untersuchungen dafür vorliegen, daß der LTH-Gehalt der Hypophyse durch HCG gesteigert werden kann (423). Mit gewissen Einschränkungen besteht auch Übereinstimmung mit den Beobachtungen, daß bei Kaninchenhypophysen in der Gravidität ein höherer Gehalt an LTH festzustellen ist (211).

Wie aus dem Zusammenhang ersichtlich, stützen sich unsere Aussagen auf die Deutung funktioneller Zusammenhänge und Vorgänge. Ein sicherer Beweis müßte durch quantitative Untersuchungen geführt werden. Für derartige Untersuchungen ist jedoch umfangreiches Tiermaterial erforderlich, über welches wir nicht ohne weiteres verfügen konnten.

Untersuchungen der HCG-Wirkung am Epithel der Brustdrüse

Es steht noch ein weiterer indirekter Weg zur Verfügung, der geeignet erscheint, die Beziehungen des HCG als Gonadotropin und besonders seine umstrittene Bedeutung als luteotropher Faktor zu beleuchten.

Allgemeines über die Beziehungen der Ovarialhormone zum Brustdrüsenepithel:

Unter Lactation ist in diesem Zusammenhang eine komplexe endokrine Regulation zu verstehen, die einmal die Vorbereitung der Brustdrüse für die Lactation, dann die Auslösung und Erhaltung der Lactation einschließt. Es handelt sich um einen außerordentlich komplexen Vorgang, der zahlreiche artspezifische Abweichungen aufweist. Die aus dem Tierexperiment gewonnenen Erfahrungen haben für menschliche Verhältnisse nur bedingte Geltung, da hier die Erfassung der hypophysären Reaktionen auf die Lactation methodisch zu große Schwierigkeiten macht.

Bei der Ratte, Maus, beim Kaninchen und der Katze kann mit physiologischen Dosen von Östrogenen eine Proliferation des Drüsenepithels der Mamma ausgelöst werden. Es betrifft im wesentlichen eine Zellreaktion im Bereich der Drüsenausführungsgänge, während eine charakteristische Mitbeteiligung der Drüsenläppchen erst bei längerer Applikation und vor allen Dingen bei höherer Dosierung zustande kommt.

Im Gegensatz zu anderen Spezies (Kuh, Ziege, Meerschweinchen), wo das Progesteron in der Mammogenese nur eine fakultative Bedeutung hat, zeigt Progesteron bei den erstgenannten Tieren einen eindrucksvollen synergistischen Effekt. Im Dosisverhältnis 1:1000 (Progesteron/Östrogene) wurde ein optimaler Wirkungsquotient gefunden (405). Neuere Untersuchungen divergieren in ihren Ergebnissen und finden aufgrund der Bestimmung des Nuklueinsäuregehaltes der Mamma als Maß ihres Wachstums für Kaninchen ein Verhältnis von 1:67 (436) und für die

Ratte einen optimalen Quotienten von 1:3000 oder 1:5000 (373). Während die Frage nach dem optimalen Dosisverhältnis offensichtlich noch nicht geklärt zu sein scheint und u.E. auch wohl immer individuellen Schwankungen unterworfen bleiben wird, darf als gesichert gelten, daß eine obligate Einwirkung von Östrogenen und Progesteron für den proliferativen Zellaufbau des Brustdrüsengewebes erforderlich ist.

Daß derartige Voraussetzungen für die Brustdrüsenentwicklung bestehen, zeigt die immer wieder bestätigte Beobachtung, daß bei hypophysektomierten Tieren auch mit noch so hohen Dosen von Follikelhormon und Progesteron kein Einfluß auf die Entwicklung der Mamma erzielt werden kann. Mit dieser Feststellung liegt der eindeutige Beweis dafür vor, daß die Hypophyse irgendwie in das funktionelle Geschehen der Mammogenese eingeschaltet ist. Es fragt sich nur, nachdem die Mitbeteiligung der Hypophyse feststeht, ob der hypophysäre Einfluß durch eines der 6 Hypophysenvorderlappenhormone (FSH, ICSH, LTH, STH, ACTH, TSH) vermittelt wird, oder ob ein besonderes hypophysäres Mammogen dafür verantwortlich ist. Die Lehrmeinung der Schule Turner, die für eine tatsächliche Existenz eines sog. mammotropen Stoffes der Hypophyse eintritt, muß zumindest heute als nicht vertretbar und unbewiesen angesehen werden, weil es den Forschern nicht gelang, den verantwortlichen Wirkstoff aus der Hypophyse zu isolieren. Außerdem sprechen auch einzelne Versuche mit lokaler Applikation von Östrogenen an der Mamma mit dem Ergebnis einer isolierten Wachstumswirkung an dieser Stelle für eine direkte, nicht über den HVL gehende Wirkung des Follikelhormons auf die Mamma. Für das Progesteron konnten diese Beobachtungen bisher nicht gemacht werden. Schließlich spricht gegen eine Mammogen-Theorie auch die Tatsache, daß man mit bekannten hypophysären Wirkstoffen eine Wachstumsanregung auf die Brustdrüse erreichen konnte.

Besonders wertvoll sind in diesem Zusammenhang die Untersuchungen von Lyons (263), der durch Injektion von LTH in einen Milchgang beim Kaninchen die Entwicklung des Drüsengewebes und Milchsekretion in diesem Bereich auslösen konnte.

Es konnte dann weiterhin zeigen, daß bei der Ratte durch die Injektion von einer quantitativ genau abgestimmten Kombination von Östradiol, Progesteron und LTH ein lobulär-alveoläres Wachstum erzielt werden konnte. Der Effekt ließ die Vermutung offen, daß möglicherweise ACTH, welches in geringem Maße in den nicht hoch gereinigten Präparaten vorhanden sein kann, für das Resultat mitverantwortlich sei. Die Annahme, daß ACTH möglicherweise synergistisch über seine Erfolgsorgane den Effekt des LTH unterstützt, scheint nach neueren Untersuchungen keine ausschlaggebende Bedeutung zu haben, da es neuerdings (1955, 1956) japanischen Forschern gelang (292, 293), mit hochgereinigtem LTH in den Drüsenausführungsgängen von ovaraktomierten Kaninchen eine starke Zellproliferation mit weiterer Ausbildung des Drüsenausführungsgangsystems, Entwicklung der Drüsenläppchen, sowie Milchsekretion hervorzurufen. Wichtig ist dabei die Feststellung, daß diese Vorgänge ohne vorausgehende Follikel und Gelbkörperhormon-Behandlung zustande gekommen sein soll. Allerdings fehlt bisher eine anderweitige Bestätigung dieser Resultate.

Die Bedeutung der übrigen glandotropen Proteine des HVL in der Frage der Beeinflussung der Mammogenese ist noch wenig geklärt, wenn auch einzelne Arbeiten über die Bedeutung der Hormone der Nebennierenrinde des ACTH, sowie über den Einfluß der Schilddrüse vorliegen. Von diesen Seiten reichen die Erfahrungen nicht aus, um biologische Regelmäßigkeiten bzw. bestimmte funktionelle Zusammenhänge sicher erkennen zu lassen.

Stoffwechseluntersuchungen deuten in die gleiche Richtung. Milchdrüsenstückchen in vitro von hypophysektomierten Ratten brauchen weniger Glukose und bilden mehr Milchsäure als Gewebsproben von intakten Tieren. Die Hypophysektomie bedingt eine Abnahme des respiratorischen Quotienten im Milchdrüsenparenchym. Ovarektomie, Exstirpation der Nebennieren, Thyreo- und Parathyreoidektomie führen nicht zur Änderung im Stoffwechsel der Milchdrüsen wie nach der Hypophysektomie (39).

Als übergeordnetes Prinzip ist jedoch die Bedeutung der Ovarialsteroide (Östrogene und Progesteron) und der Hypophyse anzuerkennen, die nicht nur indirekt durch ihre gonadotropen Wirkstoffe mit der Steuerung der Ovarialhormonproduktion in die Regelung der Mammogenese eingeschaltet ist, sondern auch in direkter Form durch das LTH in den Wachstumsprozeß und die funktionellen Vorgänge eingreift.

Nachdem diese Erkenntnisse gewonnen und experimentell gesichert waren, wurden in neueren Arbeiten (263, 264) die Zusammenhänge im einzelnen untersucht (1950-1955). Die aufschlußreichen Untersuchungen, die an hypophysektomierten und ovarektomierten Ratten durchgeführt wurden, sollen mit ihren Ergebnissen der Vollständigkeit halber kurz angeführt werden. In der tabellarischen Zusammenstellung sind nur die hier im Zusammenhang interessierenden Gesichtspunkte erfaßt (Tab.15).

Zusammenfassend besagen diese Ergebnisse, daß für die Mammogenese, d.h. für den strukturellen Aufbau des Brustdrüsenepithels eine Kombination zwischen den Ovarialhormonen, die in einem möglichst optimalen Mischungsverhältnis stehen sollen, und der mammotrope Wirkstoff LTH erforderlich ist. Unter diesen Umständen läßt sich auch die rudimentäre Brustdrüse beim männlichen Tier stimulieren. Schließlich konnte in neuerer Zeit beobachtet werden, daß bei Tieren, die ihre Jungen säugen, die Milchsekretion nach Hypophysektomie sistiert und eine Rückbildung des Drüsengewebes einsetzt. Diese regressiven Prozesse konnten weder mit Follikelhormon oder Progesteron und auch nicht nach kombinierter Anwendung beider Stoffe aufgehoben werden. Ebenso versagte die alleinige Applikation.

Eine kombinierte Behandlung mit Östrogen/Progesteron und LTH ließ jedoch einen neuen Stimulationsreiz zur Lactation erkennen (168).

Die Auslösung zur Lactation setzt ein funktionell genügend vorbereitetes Brustdrüsenparenchym voraus, sowie eine intakte Hypophyse. Während der Schwangerschaft wird die Lac-

tation durch hemmende Faktoren verhindert. Diese scheinen mit der Geburt vor allem mit der Ausstoßung der Plazenta wegzufallen. Die Lactationshemmung wird durch verschiedene Theorien zu erklären versucht, denen gemeinsam ist, daß die Hemmung durch plazentäre Steroide erfolgt. Dabei sollen Östrogene und Progesteron in synergistischem Effekt lactationshemmend wirken.

Man nimmt an, daß Verschiebungen im quantitativen Verhältnis der ovariellen Steroide zueinander irgendwie von Einfluß auf die Lactationsauslösung sind. In Verbindung mit den Steroiden kommt dann hypophysären Wirkstoffen, vor allem dem LTH besondere Bedeutung zu. Es ist zwar möglich unter geeigneten dosismäßigen Voraussetzungen mit Östrogenen die LTH-Produktion des HVL zu bremsen. Neuere Untersuchungen mit der Feststellung, daß die Hypophyse auch während der Schwangerschaft LTH bildet, stimmen mit dieser Annahme jedoch nicht überein.

Es ist anzunehmen, daß die Lactationshemmung mehr ein quantitatives Problem aus einem gewissen Antagonismus zwischen LTH einerseits und dem Ovarialsteroiden andererseits darstellt.

Für eine langsame Verschiebung der quantitativen Verhältnisse spricht die bei der Frau während der Schwangerschaft vorhandene ansteigende Tendenz der LTH-Bildung, erkenntlich an der vermehrten Ausscheidung im Urin.

Für die endgültige Lactationsauslösung dürften neben den Steroiden, die im wesentlichen einen histotropen Effekt auf die Mamma haben, und dem LTH noch weitere Stoffe von Bedeutung sein, so daß man in Anbetracht der zahlreichen unbekannten Faktoren mit Folley am besten von einem "Lactogenen Komplex" spricht.

Über pathologische Störungen wird in anderem Zusammenhang berichtet (vergl. S. 127).

Fragestellung und Versuchsansatz:

Aufgrund der bisherigen Ergebnisse gehen wir von der Annahme aus, daß HCG die Produktion von LTH im HVL stimuliert. Wir haben daher im folgenden zunächst untersucht, ob HCG unter entsprechenden Voraussetzungen einen mammotropen Effekt hat. Diese Frage mußte als grundsätzliche Voraussetzung zunächst geklärt werden.

Bei der histologischen Aufarbeitung der Brustdrüsen, die uns aus früheren Untersuchungen zur Verfügung standen, war uns bereits ein unterschiedlicher Entwicklungszustand der Mamma aufgefallen. Im ersten Fall handelte es sich um Drüsen HCG-vorbehandelter hypophysektomierter Tiere, die nach der Operation mit HCG weiter behandelt waren (vergl. S. 65). Im zweiten Fall waren die Tiere mit HCG vorbehandelt und standen bei intakter Hypophyse weiterhin unter HCG-Zufuhr (vergl. S. 70).

Der deutlich stärkere Proliferationszustand der Epithelien an Drüsenausführungsgängen und Alveolen der letztgenannten Gruppe lenkte zwangsläufig das Augenmerk auf die methodischen Unterschiede, in diesem Fall mit der Vermutung, daß die Entfernung der Hypophyse irgendeinen Zusammenhang mit der auffallenden Reaktion haben müßte. Für nähere Aussagen erschienen uns diese Unterlagen jedoch nicht ausreichend.

Arbeitsmethode:

Nicht gravide, weibliche Ratten unseres reingezüchteten Wistar-Stammes erhielten, nachdem sie ovarektomiert und hypophysektomiert waren, 5 Tage lang täglich 1 mal 50 I.E. HCG i.m. injiziert. Am 7. Tag nach der operativen Entfernung der Hypophyse wurden die Brustdrüsen operativ entfernt durch eine kleine Keilexcision des Gewebes, in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Das Aufschneiden erfolgte am Bandmikroton, welches eine serienmäßige Aufarbeitung des Materials erlaubt. Von jeder Brustdrüse wurden etwa 250 Schnitte als Serie mit Hämalaun und Eosin gefärbt und histologisch untersucht. Auf diese Weise war eine weitgehend zuverlässige Beur-

teilung des Gewebes möglich.

Die Empfindlichkeit der Brustdrüse auf die jeweilige mammotrope Stimulation ist sehr variabel. Es ist daher für etwa zu ziehende Folgerungen die Verwendung von homogenem Tiermaterial unbedingt Voraussetzung (436).

E r g e b n i s s e

Die mit HCG vorbehandelten, ovarektomierten und hypophysektomierten Tiere zeigten keinerlei Zellreaktion innerhalb der Brustdrüse, die als vermehrter Wachstumsreiz hätte gewertet werden können. Es fanden sich nur vereinzelt, kleine, völlig funktionslose Drüsenreste. Auch an den Ductuli war keine Veränderung des epithelialen Zellaufbaues zu erkennen. Nachdem wir in 5 Fällen das gleiche Ergebnis vorfanden, haben wir auf eine Ausdehnung dieser Untersuchungsreihe verzichtet (s. Tab. 16).

Vorbehandlung mit Östrogenen, Progesteron und HCG an ovar- und hypophysektomierten Tieren.

In einer anderen Gruppe wurde den ovarektomierten und hypophysektomierten Tieren 0,001 mg Follikelhormon kombiniert mit 0,1 mg Progesteron als Vorbehandlung täglich für insgesamt 7 Tage gegeben. Zusätzlich wurde dann über 5 Tage täglich einmal 50 I.E. HCG i.m. injiziert. Die Verarbeitung des Gewebes erfolgte nach den gleichen Gesichtspunkten wie unter S. 98.

E r g e b n i s s e:

Es konnten histologisch keinerlei Anhaltspunkte gewonnen werden, die man im Sinne einer Wachstumsanregung hätte deuten können. Die Drüsenepithelien verhielten sich völlig reaktionslos. Damit war bewiesen, daß das HCG auch, wenn es mit Ovarialhormonen zusammen gegeben wird, keine andere Wirkung hat.

Eine direkte Beeinflussung des Brustdrüsengewebes durch HCG findet nach den vorliegenden Untersuchungen nicht statt (Tab. 16).

Vorbehandlung ovarektomierter Tiere mit intakter Hypophyse mit Östrogenen, Progesteron und HCG.

Die folgende Versuchanordnung besteht darin, daß ovarektomierte Tiere verwendet wurden, die über ihre eigene intakte Hypophyse verfügten. Dem Tier war damit also möglich, in die künstlich hervorgerufenen Reaktionen mit der eigenen Hypophyse einzugreifen.

Arbeitsmethode:

Verwendet wurden nicht-gravide, weibliche Ratten unseres Wistar-Stammes. Bei allen Tieren war unter Berücksichtigung des Östruscyklus 7 Tage vorher die Ovarektomie durchgeführt worden. Die Vorbehandlung bestand in täglicher Applikation von 0,001 mg Östradiol-Benzoat kombiniert mit 0,1 mg Progesteron für 7 Tage. Zusätzlich wurden 50 I.E. HCG für die Dauer von 5 Tagen gegeben. 2 Tage nach Abschluß dieser Behandlung erfolgte die operative Entfernung der Brustdrüsen.

Ergebnisse

Histologisch fand sich eine starke Proliferation des Epithels der Drüsenausführungsgänge und eine deutliche Entwicklung der Drüsenacini, die vielfach ganz aufgezweigt das benachbarte Fettgewebe durchdringen. Die Epithelien sind vergrößert und die erhöhte Mitosefrequenz deutet auf ein beschleunigtes Wachstum des Gewebes hin. Diese Bilder sind in allen untersuchten Fällen, von geringen, graduellen Unterschieden abgesehen, einheitlich (Tab. 17).

Vorbehandlung mit Östrogenen und Progesteron bei hypophysektomierten Tieren mit intakten Ovarien, Nachbehandlung mit LTH.

In der nachsten Gruppe wurden den Tieren die Ovarien belassen, jedoch wie in den Vorversuchen 0,0001 mg Östradiol-

Benzoat und 0,1 mg Progesteron für 7 Tage gegeben.

Nach Abschluß dieser Behandlung wurde die Hypophyse operativ entfernt. Vom 2. Tag post op. bekamen die Tiere für 5 Tage jeweilig eine Tagesdosis von 50 I.E. HCG i.m. appliziert. Kontrollen der Veränderungen an den Genitalorganen sowie an der Mamma wurden am 3. bzw. 5. Tage nach der Behandlung durchgeführt.

Vom 5. Tage der Behandlung mit HCG an erhielten die Tiere für 2 Tage je 40 I.E. LTH i.m. injiziert.

E r g e b n i s s e

Durch die kombinierte Vorbehandlung mit Östradiol-Benzoat und Progesteron in einem Dosisverhältnis von 1:1000 fanden sich im Ovar frische Corpora lutea. Die Mamma reagierte auf diese Stimulation mit einem Wachstumsreiz des Drüsenparenchyms. Nach der Hypophysektomie setzten Rückbildungsvorgänge ein, was an den Kontrollen, die am 3. bzw. 5. Tag post op. durchgeführt wurden, zu beobachten war. Durch den Wegfall der Hypophyse entfiel die Stimulationswirkung durch die Ovarialhormone. Die einsetzenden regressiven Veränderungen konnten auch nicht, wie festgestellt werden konnte, durch die Zufuhr von HCG aufgehalten werden. Diese Beobachtung bestätigt die Ergebnisse der Untersuchungen (s. S. 99). Die Corpora lutea begannen atrophisch zu werden und die Proliferation des Drüsenepithels der Mamma zeigte keine weitere Entwicklung.

Anders jedoch lagen die Ergebnisse bei den Tieren, die zusätzlich mit LTH behandelt wurden. In allen Fällen ließ sich eine weitere Vergrößerung der Corpus lut. erkennen mit dem morphologischen Aufbau, der volle Funktionstüchtigkeit vermuten ließ. In der Mamma war eine zunehmende Entwicklung des Drüsenparenchyms zu erkennen mit beginnender funktioneller Umstellung des Epithels. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tab. 15 übersichtlich dargestellt (Abb. 38-40).

D i s k u s s i o n

Versuche Seite 99 und 100 zeigen, mit Ausnahme der Verwendung hypophysektomierter Tiere in Versuch Seite 99, die gleichen methodischen Voraussetzungen. Während in Versuch Seite 99 keine Reaktion auslösbar war, eine solche Form einer starken epithelialen Proliferation sowohl der Drüsenductuli, wie auch der Drüsenacini im Versuch nachweisbar wurde, ist man zu der Annahme geneigt, daß die intakte Hypophyse irgendwie in die Funktionsvorgänge entscheidend eingreift und die entsprechenden Reaktionen eindrucksvoll beeinflussen kann.

Überblickt man die Untersuchungen von Lyons, Li und Mitarb. (264) und deren in Tab. 15 mitgeteilten Ergebnisse, so ist zu erkennen, daß der hypophysäre Wirkstoff LTH, der sowohl als Gonadotropin luteotroph wirkt als auch als mammotroper Faktor bekannt ist, unter den entsprechenden Voraussetzungen den entscheidenden Ergänzungsstoff für die Ausbildung einer lactationsbereiten Brustdrüse darstellt. Die Ergebnisse aus Versuch Seite 101 deuten darauf hin, daß LTH der entscheidende Faktor ist für die weitere Entwicklung des Drüsenepithels. Die unterschiedlichen Ansätze der Versuche Seite 100 und 101 mit dem grundsätzlichen Unterschied, daß in dem einen Fall die Hypophyse vorhanden, im anderen Fall aber operativ entfernt war, zeigen übereinstimmende Ergebnisse. Im Versuch Seite 101 wurde das fehlende LTH substituiert, in Versuch Seite 100 konnte es durch Stimulation mit HCG vermehrt werden und im Endeffekt die gleiche Reaktion aufweisen. Aus diesen Ergebnissen ist ebenfalls abzuleiten, daß dem HCG nur eine indirekte Rolle zufällt und zwar bezüglich seiner gonadotropen Wirkung über den Weg der Hypophyse.

Die Ergebnisse können unter Berücksichtigung der eigenen Untersuchungen und der Mitteilungen anderer Autoren dahingehend gedeutet werden, daß durch die HCG-Applikation eine Stimulierung des HVL zu weiterer bzw. vermehrter Produktion von LTH angeregt wird.

Das funktionelle Verhalten des Drüsenepithels, die Wachstumstendenz und die Ausbreitung des Gewebes läßt sich unter den verschiedenen Voraussetzungen relativ gut differenzieren. Man würde jedoch der Methode zu viel abzuverlangen versuchen, wollte man aus den morphologischen Gegebenheiten eine diagnostische Differenzierung der jeweiligen hormonalen Stimulation ableiten, wie es z.B. am menschlichen Endometrium möglich ist. Es ist u.E. eine Frage der weiteren Erfahrung und wird Aufgabe weiterer Untersuchungsarbeit sein müssen, wenn dieses Gebiet in seiner funktionellen Bedeutung weiter aufgeschlossen werden soll.

Für den hier interessierenden Zusammenhang galt es zu beweisen, daß HCG keinen direkten Effekt als gonadotroper Wirkstoff hat, sondern nur unter Zwischenschaltung der Hypophyse wirken kann.

Nach den vorliegenden Untersuchungen besteht hinreichender Grund zu der Annahme, daß HCG in der Hypophyse die Produktion von LTH anregt.

Dieser Wirkstoff entfaltet dann als Gonadotropin einen luteotrophen Effekt und hat außerdem einen histotrop-mammotropen Effekt im Sinne einer Anregung der Proliferation und Differenzierung des Epithels der Brustdrüse.

IV. T e i l

Die Frage der extrahypophysären Produktion von LTH.

Die Hypophyse, speziell der Hypophysenvorderlappen (HVL), sowie die Plazenta sind als hormonproduzierende Organe anerkannt.
Bezüglich ihrer gonadotropen Wirkungen bestehen zwischen den einzelnen Tierarten deutliche quantitative und qualitative Unterschiede.

Der Hypophysenvorderlappen bildet, soweit man heute feststellen kann - das follikelstimulierende Hormon (FSH), das interstitielzellenstimulierende Hormon (ICSH) und als dritten gonadotropen Wirkstoff das LTH, dem ein luteotropher Effekt zugeschrieben wird und in einer Art "duotropen Wirksamkeit" gleichzeitig auf die Entwicklung des Brustdrüsenepithels, als mammotroper Faktor in Frage kommen soll.

FSH und ICSH erfüllen im cyklischen Geschehen bestimmte bekannte Aufgaben. Sie wirken synergistisch und lenken in einem den jeweiligen Erfordernissen angepaßten Mischungsverhältnis die funktionellen Vorgänge der Gonaden. Wichtig dabei ist die Erkenntnis, daß die hypophysären "tropen" Hormone nicht einzeln und unabhängig voneinander, sondern nebeneinander, gemeinsam wirken, wobei sich ihr quantitatives Dosisverhältnis laufend dem jeweiligen Funktionszustand entsprechend verschiebt und den Erfordernissen der Keimdrüsenfunktionen Rechnung trägt. Innerhalb dieses komplizierten Systems kann man selbst einige antagonistische, biologische Reaktionen (z.B. das Verhältnis von LTH zu FSH) so deuten, daß aus diesem Verhalten erst ein voll funktioneller Synergismus resultiert.

Die Kenntnisse der hormonalen Regulationen gehen im wesentlichen auf tierexperimentelle Untersuchungen, in geringerem Maße auf Beobachtungen am Menschen zurück. Es ist selbstverständlich, daß die Ergebnisse aus dem Tierexperiment immer nur mit Einschränkung und Vorbehalt auf die Verhält-

nisse beim Menschen übertragen werden können.

Diese kritische Überlegung möchten wir auch den hier mitgeteilten Ergebnissen voranstellen, besonders darum, weil das Gonadotropin III (LTH) heute noch in seiner physiologischen Bedeutung wenig aufgeklärt ist und zahlreiche divergierende Ergebnisse nicht erlauben für die funktionelle Bedeutung des LTH einheitliche Regeln aufzustellen.

Bezüglich des LTH sind wir fast ausschließlich auf die Auswertung tierexperimenteller Ergebnisse angewiesen, da entsprechende Erfahrungen am Menschen noch nicht vorliegen. Das ubiquitäre Vorkommen in den Hypophysen der Wirbeltiere läßt aber die berechtigte Vermutung zu, daß dieser Stoff eine besondere Bedeutung in den hormonalen Funktionen hat, zumal bestimmte regelmäßige Abhängigkeiten von einzelnen Funktionsstadien wie z.B. Cyklus, Gravidität, Lactationsperiode und Kastration beobachtet werden können und auch pathologische Veränderungen auf hormonelle Zusammenhänge schließen lassen, wie z.B. die Gynäkomastie, das Chiari-Frommel-Syndrom, die Galaktorrhoe bei Corionepitheliom.

Nach heutigen Erkenntnissen handelt es sich bei dem LTH um einen duotropen Wirkstoff, der auf der einen Seite als luteotropher, auf der anderen Seite als mammotroper Faktor gilt. Die unterschiedliche Reagibilität einzelner Tierspezies und die fehlende Erfahrung am Menschen sind einige Gründe für die zurückhaltende Einstellung allen Fragen gegenüber, die das LTH betreffen. Es lohnt sich um so mehr durch weitere Untersuchungen zur weiteren Aufklärung beizutragen.

Es ist aus verständlichen Gründen nicht möglich, all die zahlreichen Fragen zu diskutieren, die noch ihrer Aufklärung bedürfen. Ein Teil wurde bereits, soweit es den jeweilig vorliegenden Zusammenhang betraf, erwähnt.

Aus dem umfangreichen Fragenkomplex haben wir bestimmte Gesichtspunkte herausgegriffen und durch experimentelle Untersuchungen zu beantworten versucht. Während für die gonadotropen Wirkstoffe FSH und ICSH kein Anlaß besteht die

Frage einer möglichen extrahypophysären Bildung zu diskutieren, scheint diese Frage im Hinblick auf das LTH nicht ohne weiteres unberechtigt zu sein. Im Gegenteil, durch den Nachweis von LTH im Hypophysenhinterlappen (268, 403) im Endometrium der Stute, im Brustdrüsengewebe, besonders aber durch den Nachweis nicht unbeträchtlicher Mengen von LTH in der Leber von Rindern und Schweinen, wurde die Frage aufgeworfen, ob nicht etwa auch andere Organe neben der Hypophyse imstande sind den gonadotropen Wirkstoff LTH selbst zu bilden. Diese Frage wurde neuerlich besonders ernsthaft diskutiert (318), ohne daß bisher durch weitere Untersuchungen darüber entschieden werden konnte, ob die Leber tatsächlich in der Lage ist von sich aus LTH zu produzieren.

> Nachdem wir unter entsprechenden untersuchungstechnischen Voraussetzungen in der Rattenleber "LTH-Aktivität" nachweisen konnten, war die erste grundsätzliche Forderung für die weiteren biologischen Untersuchungen gegeben.

Wir haben absichtlich darauf verzichtet, eine positive biologische Reaktion als verläßlichen Nachweis für LTH anzuerkennen, sondern haben vielmehr beim Vorliegen einer positiven biologischen Reaktion von "LTH-Aktivität" gesprochen. Wir wählten diese Formulierung, um der bisher noch nicht absolut sicher geklärten Identitätsfragen von hypophysärem LTH und biologisch gleichartig reagierenden Stoffen aus anderen Organen Rechnung zu tragen.

Unsere quantitativen Auswertungen mußten wir auf relativ grobe Feststellungen beschränken, da einmal die erforderliche Reinsubstanz nicht in ausreichender Menge zur Verfügung stand, und zum anderen der Verbrauch einer zu großen Anzahl Tiere vermieden werden mußte.

Nach groben Feststellungen lagen die Werte für die "LTH-Aktivität" der Rattenleber unter einem Wert von 0,05 Gamma, getestet gegen ein Präparat des internationalen Standardwertes. Der wahre Wert dürfte im Einzelfall noch tiefer liegen, da wir für die genannten Untersuchungen und zur

chemischen Aufarbeitung des Materials das Gewebe von einem Kollektiv von durchschnittlich 7 - 10 Tieren (= 50 Gramm Gewebe) verwendet haben.

> Es gelang uns dann nachzuweisen, daß die Stimulation mit Östradiol-Benzoat, welche die Produktion von LTH in der Hypophyse anregt, einen entsprechenden parallelen Anstieg der Werte für die LTH-Aktivität in der Leber nach sich zieht.

Unsere Feststellung, daß nach operativer Entfernung der Hypophyse in der Leber keine "LTH-Aktivität" mehr nachzuweisen ist, deutet darauf hin, daß die Hypophyse eine unentbehrliche Rolle bei der LTH-Produktion spielt, und daß die Leber nicht imstande ist selbst LTH zu produzieren geht auch daraus hervor, daß am hypophysektomierten Tier eine Stimulation mit Östradiol-Benzoat ohne Einfluß ist. Eine LTH-Bildung kommt nicht zustande.

Man muß daraus entnehmen, daß die Leber lediglich als Organ für eine vorübergehende Speicherung oder Durchlauf in Betracht kommt. In welchem Sinne diese Speicherung zu verstehen ist, läßt sich nicht ohne weiteres beantworten. Es wäre sowohl daran zu denken, daß sie eine Art Reservoir darstellt, wie auch an die Möglichkeit, daß die faßbaren Mengen, die im biologischen Test als "LTH-Aktivität" in Erscheinung treten, Überschüsse darstellen, bzw. abgebaut werden, was heißen würde, daß sie in der Leber ohne Steuerung der Hypophyse abgebaut werden können.

In der gleichen Richtung ist auch die eigene Beobachtung zu deuten, daß nach der Hypophysektomie die in der Leber nachweisbare LTH-Aktivität laufend abnimmt und am 4. Tage nach der Operation keine "LTH-Aktivität" mehr feststellbar ist. Wir glauben aus unseren Ergebnissen weiterhin die Behauptung ableiten zu dürfen, daß eine extrahypophysäre Produktion von LTH nicht stattfindet. Würde außerhalb der Hypophyse eine LTH-Bildung stattfinden, so müßte auch nach Entfernung der Hypophyse in der Leber mit einer länger anhaltenden LTH-Aktivität zu rechnen sein.

Diese Schlußfolgerung läßt sich durch eine andere biologische Reaktion stützen.
LTH stellt zumindest für die Ratte nachweislich einen luteotrophen Faktor dar, d.h. der durch die luteinisierende Wirkung des hypophysären ICSH gebildete Gelbkörper wird erst durch LTH zur Synthese und Sekretion von Progesteron befähigt. Ohne LTH findet keine aktive Sekretion von Gelbkörperhormon aus dem Ovar statt. Ratten, die durch Vorbehandlung mit Östrogenen und HCG - das im wesentlichen dem ICSH vergleichbare Wirkungen hat - frische Corpora lutea gebildet haben, zeigen keine Progesteronwirkung an den Erfolgsorganen (Diöstrusstadium, Deziduomreaktion im Uterus), wenn ihnen die Hypophyse entfernt wurde.

Unter der Voraussetzung, daß sonstwo im Organismus eine LTH-Produktion stattfinden würde, müßte damit gerechnet werden, daß auch ohne die Hypophyse eine Funktionstüchtigkeit des Gelbkörpers eintreten würde mit dem Ergebnis einer Progesteronreaktion an den Erfolgsorganen.

Die Zuverlässigkeit des Deziduomtestes als Nachweisreaktion für aktive Sekretion von Progesteron aus dem Ovar veranlaßte uns zu dem Versuch, dieses funktionelle Verhalten der Ratte zur Testierung von LTH bzw. LTH-haltigen Stoffen heranzuziehen. Den Vorteil der Methode sehen wir darin, auf die Verwendung von Tauben verzichten zu können, allerdings auf Kosten einer technisch etwas schwierigeren operativen Methode an der Ratte. Der praktische Wert wird allerdings abhängig sein von der Empfindlichkeit der Methode und der entscheidenden Frage, ob die Empfindlichkeit die Grenzen des Taubenkropftestes erreicht. Wir haben mit quantitativen Vergleichsuntersuchungen begonnen, um die biologische Verwertbarkeit für Routineuntersuchungen zu prüfen.

Die Frage der LTH-Bildung in der Plazenta.

In der Plazenta verfügt der weibliche Organismus während der Schwangerschaft über ein weiteres, innersekretorisches aktives Organ. Der Organismus erfährt während dieser Zeit hormonell eine erhebliche Umstimmung und wird sowohl im Verhält-

s zur Hypophyse, wie zu den Gonaden anders reguliert.

Es ist bekannt, daß mit Plazentargewebe, -homogenaten oder xtrakten einzelne Funktionen, die sonst durch die Hypophyse regelt werden, ersetzt werden können. Das trifft zu für den teotrophen und mammotropen Wirkstoff der Hypophyse, das LTH. ese Fähigkeit, hypophysäre Wirkstoffe substituieren zu können, d nicht zuletzt der Nachweis von LTH-aktiven Substanzen in r Plazenta, waren der Anlaß, in der Plazenta eine eigene Pro- ktion entsprechender Wirkstoffe zu vermuten.

Die entscheidende Frage, ob die Plazenta imstande ist LTH lbst zu bilden, wurde bisher jedoch nicht untersucht.

In den eigenen Untersuchungen konnten wir zunächst bestätigen, daß die Plazenta über LTH-Aktivität verfügt, und daß diese um den 12. Schwangerschaftstag die höchste Aktivität aufweist. In Fortführung der Arbeiten konnten wir dann den Beweis führen, daß die Plazenta nach operativer Entfernung der Hypophyse nicht mehr imstande ist im biologischen Test eine positive LTH-Reaktion auszulösen.

ir beurteilen diese Ergebnisse dahingehend, daß auch für die lazenta nur eine vorübergehende Einlagerung des hypophysären irkstoffes in Betracht kommt, und erklären uns die Tatsache, aß es in den meisten Fällen nach Hypophysektomie zur vorzeiigen Beendigung der Schwangerschaft kommt, so, daß der für die ufrechterhaltung der Gravidität bei der Ratte unbedingt erforerliche Gelbkörper durch die nicht mehr ausreichende bzw. chließlich völlig fehlende LTH-Wirkung kein Progesteron mehr ynthetisiert und sezerniert.

In unseren Ergebnissen ist eine deutliche Übereinstimmung it dem Zeitpunkt des völligen Aufbrauchs der LTH-Reserven in er Plazenta (3. Tag nach Hypophysektomie) und der Beendigung er vorhandenen Schwangerschaft der Tiere festzustellen. Neben ieser Vermutung, die wir aus unseren Ergebnissen ableiten, rörtert Dyroff im Sinne der Neurosekretionslehre für die Wirktoffe des Hinterlappens die Möglichkeit, daß durch die Hypoysektomie, wobei zwangsläufig auch der HVL entfernt wird,

die hypophysäre Regulation auf die Hinterlappenhormone (Oxitocin, Vasopressin) wegfällt, und diese uneingeschränkt wirksam werden können, da ihre Produktion im Diencephalon nicht unbedingt eingeschränkt sein muß.

Die Frage einer extrahypophysären Bildung von LTH glauben wir mit unseren Ergebnissen im negativen Sinne entschieden zu haben und können zusammenfassend feststellen, daß eine extrahypophysäre Produktion von LTH auch nicht in der Plazenta stattfindet.

Diese Ergebnisse stützen sich auf Untersuchungen an der Ratte.

Die Frage der gonadotropen Aktivität der Hypophyse während der Gravidität.

Nach den oben mitgeteilten Ergebnissen wäre auch für die Gravidität eine gonadotrope Funktion der Hypophyse anzunehmen, zumindest eine partielle, auf die Produktion von luteotrophem Hormon gerichtete Aktivität. Dieser Feststellung steht allerdings die Mitteilung Philipps entgegen (314), daß die menschliche Hypophyse in der Schwangerschaft keine hypophysären Gonadotropine enthält. Aufgrund der genannten Ergebnisse neigt man zu der Annahme, daß die menschliche Hypophyse in der Gravidität keine gonadotrope Funktion hat. Wir können zwar annehmen, daß durch die synergistische Wirkung der im Ovarium und in der Plazenta gebildeten Östrogene und Gestagene bei menschlichen Verhältnissen eine Hemmung der Gonadotropinbildung erfolgt. Dies ist u.E. aber für den luteotrophen Faktor der menschlichen Hypophyse noch unbewiesen. Außerdem läßt sich dagegen einwenden, daß der Hormongehalt einer Drüse nicht unbedingt ein Maß für ihre Aktivität sein muß (360a). So wäre die Fehldeutung, bei starker Sekretion und schneller Ausscheidung auf eine geringe Eigenaktivität zu schließen ohne weiteres denkbar, wobei aber die wirklichen funktionellen Verhältnisse völlig verkannt würden. Aus dem Tierexperiment ist aber bekannt, daß die Hypophyse im Verlaufe der Schwangerschaft einen ansteigenden Gehalt an LTH aufweist. Dies scheint nach neueren Untersuchun-

gen auch für den Menschen zuzutreffen (438). Daß auch beim Menschen der luteotrophe Faktor - LTH - eine Rolle spielt, ist anzunehmen, da mitlerweile bestimmte Abhängigkeiten von einzelnen hormonellen Funktionsstadien (z.B. Corp.lut.Phase, Gravidität) festgestellt werden konnten.

Die Frage des zellulären Bildungsortes des LTH.

Über die Hypophyse liegen ausführliche morphologische Untersuchungen über den zellulären Bildungsort des LTH vor. Im allgemeinen wird angenommen, daß die acidophilen Zellen des HVL für die Produktion des LTH in Betracht kommen (382). Für diese Annahme spricht nach Untersuchungen an der Ratte und dem Meerschweinchen die Hyperplasie der Acidophilen gegen Ende der Gravidität und zu Beginn der Lactationsperiode (217), die dem erhöhten Gehalt an LTH in der Hypophyse in diesen Stadien konform geht. Gleichartige Ergebnisse liegen auch von Untersuchungen an Katzen und Kaninchen vor (148, 149, 150). Die sog. "LTH-Bildner" stellen eine Untergruppe der Eosinophilen (od. Acidophilen) dar und werden häufig wegen ihrer besonderen Affinität zu Azocarmin als carminophile Zellen bezeichnet. Diese sind in der späten Gravidität besonders stark mit Granula angefüllt. Durch die einsetzende Lactation erfolgt dann eine spontane Degranulierung. Der gleiche Effekt läßt sich durch den Stillreiz oder elektrische Reizung der Cervix hervorrufen. Einige Untersuchungen, darauf gerichtet die Produktion von LTH im HVL durch Applikation von Ovarialhormonen anzuregen, konnten durch Anwendung histologischer bzw. histochemischer Methoden zeigen, daß die Acidophile als Bildungsorte in Betracht kommen. Dabei zeigte sich, daß kleine Östrogendosen die Eosinophilen und die sekretorisch aktiven Chromophoben zu stimulieren vermögen, die Basophilen dagegen unbeeinflußt lassen (431, 432). Die Östrogene sollen in allen Konzentrationen einen Hemmungseffekt auf die Basophilen ausüben und ihre Anzahl reduzieren und zwar in einem der Dosis direkt proportionalen Verhältnis (133, 134). In den Acidophilen konnten besonders proteingebundene Sulfhydril - und

Disulfid-Gruppen nachgewiesen werden.

Da LTH neben ACTH in seinem Aufbau über die entsprechenden chemischen Gruppen verfügt, ist auch hieraus zumindest ein richtungsweisender Hinweis auf die mögliche Lokalisation abzuleiten.

Die Frage nach der zellulären Bildung bleibt aber trotzdem umstritten und wird durch die verwirrende Vielfältigkeit der Zellbilder unter den verschiedenen Funktionszuständen und die uneinheitlichen, ja teilweise divergierenden Einzelbefunde weiter kompliziert. Unterschiede der einzelnen Tierspezies, der Versuchsanordnungen und -methoden dürften dafür verantwortlich sein.

Die primäre Frage ist auch hier noch nicht entschieden, ob die einzelnen durch spezielle Granulierung gekennzeichneten Zelltypen selbständige Elemente ohne Zwischenformen und gegenseitiges Ineinanderübergehen darstellen, wie es die sog. pluralistische Theorie (34, 224, 287) ausdrückt, oder aber der unitaristischen Theorie entsprechend alle Zellelemente auf einer Stammzelle aufbauen und Übergangsformen darstellen. Nach dieser Lehre werden die Granulierungen als das Substrat unterschiedlicher Reifungs- und Funktionsstadien angesehen. Ein Wechsel oder Übergang von acidophilen zu basophilen Zellen oder umgekehrt wird hier für möglich erachtet (26, 143, 144, 343, 348, 386). In der erstgenannten Theorie führt man die einzelnen Arten auf verschiedene Funktionsphasen nur einer Zellart zurück. Für die Hormonproduktion sollen nur die chromophilen Zellen in Betracht kommen, während die chromophoben Elemente als Übergangs- bzw. inaktive Ruhestadien oder auch als histogenetische Reserve der Chromophilen in Frage kommen sollen.

Über cyklische Veränderungen des Zellcharakters der Adenohypophyse gehen die Meinungen gleichfalls noch auseinander.

Die Auffassung, die Tropinbildung in einen Zelltypus zu verlegen, gewinnt neuerdings wieder mehr und mehr an Bedeutung (53, 54, 55, 56, 57).

Dyroff vertritt in Übereinstimmung mit der unitaristischen Theorie die Ansicht, daß sich die Zellen, je nach peripherem Reiz, diesen verarbeiten und beantworten, wobei chemisch ein Wirkstoff in den anderen übergeführt werden kann, und so der erforderlichen Funktion gemäß, Wirkstoffe gebildet und abgegeben werden (105).

Unter diesen Gesichtspunkten erscheint auch der Gedanke nicht möglich, daß die HVL-Zellen nur einen Grundstoff bilden, der mit geringen Abänderungen an der jeweiligen peripheren Hormondrüse unterschiedliche, aber spezifische Wirkungen entfaltet, zumal die Konstitutionsformeln der Proteohormone des HVL noch nicht aufgeklärt sind (407).

Unabhängig von diesen Überlegungen ist festzustellen, daß das morphologische Strukturbild der Hypophyse mit seinen differenten Zelltypen keinen morphologischen Vergleich mit dem Gewebe der Plazenta erlaubt. Zumindest können wir aufgrund pathologisch-anatomischer Kenntnisse sagen, daß die Zellen, die im HVL als Gonadotropin bildende Einheiten in Betracht kommen, in der Plazenta nicht nachweisbar sind. Diese Feststellung kann zwar nicht als beweisendes Kriterium angesehen werden dafür, daß andere Zelleinheiten nicht der gleichen Leistung fähig sein könnten. Es macht aber nach morphologischen Gesichtspunkten die Wahrscheinlichkeit gering, daß außerhalb des Gewebsverbandes des HVL Funktionen ablaufen, die in der Auswirkung völlig gleich sind, aber von grundverschiedenen Gewebstypen ihren Ausgang nehmen.

Demnach liegen keine überzeugenden morphologischen Gesichtspunkte vor, die Erkenntnis, daß die Plazenta nicht als LTH-produzierendes Organ in Betracht kommt, einzuschränken, zumal auch das HCG der Plazenta mit dem ICSH der Hypophyse hinsichtlich der biologischen Funktion nicht identisch ist.

Die Frage nach dem Wirkungsmechanismus des luteotrophen Effektes des Choriongonadotropins (HCG).

Im zweiten Teil der Arbeit haben wir Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des Choriongonadotropins (HCG), einem nicht hypophysären gonadotropen Wirkstoff, durchgeführt. HCG kommt normalerweise nur während der Schwangerschaft und unter pathologischen Bedingungen bei geschwulstiger Entartung des generativen Gewebes vor.

Die Konstitutionsformel des HCG ist noch nicht bekannt. Das heute als Reinsubstanz vorhandene Material gilt nicht als rein im chemischen Sinne und kann noch in weitere Peptidfraktionen aufgespalten werden, die ihrerseits teilweise noch über die biologischen Eigenschaften des HCG verfügen (381). Man weiß jedoch, daß es sich um ein Glucoproteid handelt, welches außer dem Proteinbestandteil Galaktose und Hexosamin enthält.

Vom chemisch-morphologischen Standpunkt aus sind entscheidende Beiträge zur Lösung der Frage nach dem Produktionsort der plazentaren Wirkstoffe im Augenblick nicht zu erwarten, da entsprechende spezifische Reaktionen von ausreichender Empfindlichkeit nicht zur Verfügung stehen. Die bisher vorhandenen Möglichkeiten erlauben nur allgemeine und vieldeutige Aussagen. Nach chemisch-morphologischem und elektronenoptischem Verhalten unterscheiden sich Synzytium und Langhans'sche Zellen deutlich. Die am Synzytium gewonnenen Beobachtungen lassen sich möglicherweise auf die Steroidproduktion beziehen. Als Produktionsstätte der Gonadotropine sollen, aufgrund ihrer Stoffwechselaktivität, die persistierenden Elemente des Zytotrophoblasten in den Zellinseln und in den sog. Umlagerungszonen in Betracht kommen (23). In wieweit diese Vermutung mit dem während der Schwangerschaft absinkenden HCG-Titer und den morphologischen Strukturveränderungen der Plazenta im Verlauf der Gravidität (Verschwinden der Langhans'schen Zellschicht) vereinbar ist, wäre noch durch entsprechende Untersuchungen zu klären. U.E. ist die Produktion der plazentaren, gonadotropen Wirkstoffe gegen Ende der

Schwangerschaft auf diese Weise nicht ausreichend erklärt. Die Bildung von HCG in der Dezidua ist ebenfalls diskutiert worden (220), wird aber von anderen Autoren abgelehnt (314).

Die physiologische Aufgabe des HCG besteht u.a. darin, in der Schwangerschaft die Stimulierung des Corpus lut. bzw. die Progesteronsekretion zu besorgen.

Aufgrund klinischer Beobachtungen wird dem HCG ein luteotropher Effekt zugeschrieben (78, 354), da durch seine Verwendung eine Menstruationsverschiebung (78, 43. 354, 4, 162, 204) und eine deutliche deziduale Umwandlung des Stroma endometrii erreicht werden kann (78, 354, 43, 192). Bei der Frau kann es durch die Applikation von HCG zum Zustandsbild der sog. Pseudogravidität (43) mit Persistieren des Corpus.lut. und vermehrte Pregnandiolausscheidung im Urin (192, 43) kommen. Diese Möglichkeit wird besonders in der letzten Zeit zur Therapie von genitaler Hypoplysie und Sterilität empfohlen (341, 342, 394).

Die Tatsache, daß nur große Dosen, nicht aber kleine HCG-Mengen einen luteotrophen Effekt haben (44), entspricht der zeitlichen Übereinstimmung des hohen HCG-Spiegels mit der hohen Aktivität des Corp. lut. grav. (45, 46).

Nach diesem kurzen Überblick über objektive Beobachtungen und die eindeutigen Therapieerfolge, besteht kein Zweifel an der Tatsache, daß HCG einen luteotrophen Effekt verursachen kann.

> Wir haben in eigenen Untersuchungen versucht, den Wirkungsmechanismus, der diesem Effekt zugrunde liegt, aufzuklären, da bisher keine Entscheidung der Frage vorliegt, ob HCG auf direktem Wege auf das Erfolgsorgan, oder unter Zwischenschaltung anderer Organe indirekt luteotroph wirkt.

Um die Möglichkeit einer direkten Einwirkung zu überprüfen, haben wir Ratten durch Injektion von Östradio-Benzoat und HCG in den Zustand der Pseudogravidität versetzt. Die Behand-

lung mit HCG wurde nach der operativen Entfernung der Hypophyse fortgesetzt und dann im sog. Deziduomtest der Progesteroneffekt am Stroma endometrii kontrolliert. Wie aus Tab. 9 hervorgeht, ergab sich in keinem Fall ein Hinweis für einen positiven Progesteronnachweis.

Mit dieser Feststellung konnte ein direkter Einfluß des HCG auf das Endometrium ausgeschlossen werden, wenn die Hypophyse zuvor ausgeschaltet war.

In einer anderen Versuchsanordnung führten wir die gleichen Untersuchungen durch, jedoch mit dem Unterschied, daß die verwendeten Tiere nicht hypophysektomiert waren. Die Mehrzahl dieser Tiere zeigte unter dieser Voraussetzung eine positive Progesteron-Peaktion, in signifikantem Unterschied zur ersten hypophysektomierten Tiergruppe.

Die Ergebnisse unserer beiden methodisch verschiedenen Versuche vermitteln einen Hinweis auf die Rolle der Hypophyse für den Wirkungsmechanismus des HCG. Ein luteotropher Effekt war zu bestätigen. Das Zustandekommen zeigte aber eine Abhängigkeit vom Vorhandensein einer intakten Hypophyse.

Diese Untersuchungen wurden an Ratten durchgeführt. Die Ergebnisse sind deshalb zumindest auf die Verhältnisse dieser Tiere zu beziehen.

Die Verhältnisse der sog. menschlichen Pseudogravidität sind in diesem Zusammenhang besonders interessant und geeignet die mitgeteilten Ergebnisse zu bestätigen.

Dieses Zustandsbild setzt voraus, daß ein persistierender, funktionstüchtiger Gelbkörper vorhanden ist, dieser aber, daß die Hypophyse durch vermehrte luteotrophe Aktivität die Funktion des Corpus lut. unterstützt. Die beim Menschen durch Substitution hoher Progesterondosen verursachte sog. Pseudogravidität hat eine wesentlich andere, u.E. unphysiologische, Hormonkonstellation (vergl. S. 145). Beim Tier ist HCG allein dazu nicht imstande bei fehlender Hypophyse, dagegen ist LTH unabhängig und zeigt auch am hypophysektomierten Tier den gleichen Effekt. Die Zusammenhänge deuten darauf hin, daß

HCG nur indirekt luteotroph wirkt und zwar über den Weg einer Produktionsanregung des LTH in der Hypophyse.

Nach bisherigen Untersuchungen (115) ist unter allen hypophysären, gonadotropen Wirkstoffen nur das LTH imstande einen Gelbkörper im Hypophysektomierten Tier funktionstüchtig zu machen, d.h. eine im Deziduomtest nachweisbare Progesteronsekretion zu verursachen. Eine mögliche Beteiligung des ACTH an diesem Effekt konnte mit Verbesserung der chemischen Darstellungsmethoden und weitgenender Reindarstellung des LTH ausgeschlossen werden. FSH, verunreinigt durch Spuren von ICSH, kann gelegentlich einen positiven Deziduomtest hervorrufen; dies setzt aber voraus, daß die verwendeten Tiere über eine intakte Hypophyse verfügen, womit aber ein Unsicherheitsfaktor durch den unkontrollierbaren Einfluß der eigenen Hypophyse gegeben ist, der u.E. die Reaktion nicht mehr bewerten läßt.

Die nicht hypophysären Gonadotropine sind nicht imstande am hypophysektomierten Tier eine Deziduomreaktion auszulösen, d.h. sie haben keine direkte stimulierende Wirkung auf den Gelbkörper zur Sekretion von Progesteron.

Das LTH bedingt eine Deziduombildung sowohl in normalen als auch in adrenalektomierten und hypophysektomierten, nicht jedoch in ovarektomierten Tieren. Es handelt sich demnach um eine direkte Wirkung auf die im Ovar vorhandenen Corpora lutea.

Diese Behauptung läßt sich auch durch die jeweiligen morphologischen Befunde bestätigen, soweit man vom histologischen Bild auf funktionelle Vorgänge schließen darf (114, 115).
Auch die folgenden Beobachtungen bestätigen den luteotrophen Effekt des LTH.

Es ist möglich mit der Injektion von Ergotoxin bei der Ratte beides, die frühe Gravidität und die Pseudogravidität zu beseitigen (361). Auf die gleiche Weise kann die Entwicklung von dezidualem Gewebe verhindert werden (z.B. Deziduomtest(362). Der auf diese Weise beendeten Schwangerschaft

folgt nach 48 - 96 Stunden in der Vagina das Bild des Proöstrus bzw. das Östrusstadium. Die Wirkung des Ergosterins kann durch entsprechende Progesteronmengen verhindert bzw. aufgehoben werden (362, 363, 364). Es wurde festgestellt, daß Ergotoxin keine gonadotrope Wirksamkeit hat (365). Ergotoxindosen, die ausreichen eine Schwangerschaft zu beenden, beeinflussen den Gonadotropingehalt der Hypophyse nicht (366). Demnach muß angenommen werden, daß Ergotoxin irgendwie auf den Progesteronstoffwechsel hemmend einwirkt. Das Vorhandensein der Nebenniere ist für den Effekt des Ergotoxins nicht erforderlich (367). Ausreichende Dosen von Progesteron können die Wirkung des Ergotoxins verhindern (362, 364). Da mit LTH ebenfalls die Wirkung des Ergotoxins aufgehoben bzw. verhindert werden kann (366), wird angenommen, daß durch LTH eine ausreichende Progesteronsekretion garantiert ist, die dann die Wirkung des Ergotoxins kompensieren kann. Inwieweit in diese Vorgänge vegetative muskuläre Steuerungsvorgänge hineinspielen, wäre noch zu untersuchen. Zumindest lassen der muskeltonussenkende Effekt des Progesterons und der gegenteilige, tonussteigernde Effekt des Ergotoxins eine mögliche Beteiligung vermuten (Dyroff).

Untersuchungen an Kaninchen bestätigen, daß auch Tiere, die nicht cyklisch wiederkehrende Östrusstadien aufweisen - das Kaninchen reagiert bekanntlich nur auf bestimmte Reize mit einer induzierten Ovulation - nur unter der Einwirkung des luteotrophen Wirkstoffes LTH mit einer Funktionstüchtigkeit der Corpora lutea reagieren.

Für beide Arten, spontan und nicht spontan ovulierende, bestehen für die Beziehung Hypophyse - Corpus lut. grundsätzlich gleichartige Bedingungen, wie nachgewiesen werden konnte (118, 123, 347).

Bemerkenswert ist dabei, daß eine längere Applikation von HCG beim Tier mit intakter Hypophyse die gleichen Wirkungen hervorruft wie das substituierend zugeführte LTH beim hypophysektomierten Tier, nämlich die Anregung des Gelbkörpers zur Progesteronsekretion.

Solange nicht durch andere Untersuchungen bewiesen werden kann, daß andere, uns heute vielleicht noch nicht bekannte Funktionen der Hypophyse diese Reaktionen auslösen, darf aus den vorliegenden Untersuchungen abgeleitet werden, daß HCG neben seiner, dem ICSH vergleichbaren, luteinisierenden (luteotropen) Wirkung auf das Ovar, über die Hypophyse eine Anregung zur Sekretion von LTH verursacht, das seinerseits dann als luteotrophes Prinzip die Funktion des Corpus lut. zur Sekretion von Progesteron stimuliert, demnach also indirekt luteotroph wirkt.

Eine Bestätigung dieser Annahme sehen wir in der Beobachtung, daß eine einmalige Zufuhr von HCG in Verbindung mit einer geringen Dosis LTH ausreicht, um den gleichen Effekt zu erzielen, wie eine längere Applikation von HCG beim intakten, oder LTH alleine beim hypophysektomierten Tier, wenn diese über frisches Luteingewebe verfügt.

Die Untersuchungen führten wir mit Hilfe der sehr empfindlichen biologischen Nachweisreaktion nach Hooker u. Forbes (207, 208) durch, nach vorhergehender chemischer Aufarbeitung des entnommenen Blutes nach der Methode von Zander u. Simmer (439) zur Isolierung von Progesteron.

Die operative Technik des Hooker-Forbes-Testes haben wir nach eigenen Überlegungen modifiziert und die Abänderungsvorschläge begründet (vergl. S. 80).

Die Frage der luteotrophen Wirkung des HCG, kontrolliert am mammotropen Effekt des LTH.

Auf einem methodisch anderen Wege haben wir ebenfalls nachzuweisen versucht, daß HCG nicht direkt, sondern über den Weg einer Anregung zur vermehrten LTH-Produktion indirekt luteotroph wirkt.

Wir sind ausgegangen von der Erkenntnis, daß bei der Ratte eine Behandlung mit Ovarialhormonen in der Brustdrüse niemals zur Entwicklung eines sekretorischen Drüsenepithels führt, wenn nicht die mammotrope Wirkung des LTH mitbeteiligt

ist. Über die einzelne Möglichkeit einer hormonalen Stimulierung der Brustdrüse wurde in anderem Zusammenhang ausführlich berichtet (vergl. S. 93).

Beim Meerschweinchen ist im Gegensatz zu anderen Säugern auch mit östrogenen Substanzen allein ohne Kombination mit Progesteron eine wesentliche Entwicklung des lobulo-alveolären Systems der Mamma möglich. Es ist nach entsprechenden Untersuchungen jedoch anzunehmen, daß die NNR kompensatorisch für den Progesteronmangel eintritt durch Bereitstellung gestagener Steroide. Unter diesen Gesichtspunkten dürfte dann kaum eine grundsätzliche Unterscheidung zum Verhalten anderer Tiere vorliegen (203).

Zunächst konnte nachgewiesen werden, daß HCG selbst keinen Einfluß auf das Epithel der Brustdrüse hat, ob alleine, oder in Verbindung mit den Ovarialsteroiden.

Die Ergebnisse deuten auf die besondere Rolle der Hypophyse hin, da unter veränderten Voraussetzungen d.h. bei intakter Hypophyse, aber gleichartiger Behandlung mit HCG eine deutliche Epithelreaktion innerhalb der Brustdrüse zu erkennen waren. Die gleichen Erfolge waren zu verzeichnen, wenn die Tiere bei gleicher Behandlung hypophysektomiert waren und LTH zugeführt wurde. In ähnlichem Sinne sind auch die Beobachtungen zu werten, wo es infolge eines Chorionepithelioms bei einem nicht geschlechtsreifen Mädchen (299) und auch bei Männern zur Wachstumsanregung und Kolostrumbildung in der Brustdrüse kam (126).

> In allen Untersuchungen war als bemerkenswertes Ergebnis festzustellen, daß der Effekt des HCG nur beim Tier mit intakter Hypophyse und umgekehrt beim hypophysektomierten Tier nur in Verbindung mit LTH auftrat.

Wenn wir die eigenen Untersuchungen in die funktionellen Beziehungen Hypophyse - Gonaden einordnen wollen, so würde sich für die cyklischen Regulationen etwa folgendes Bild ergeben.

Die Frage des luteotrophen Faktors im Cyklus.

Die Entwicklung des Follikels bis zum Zweischichtenstadium der Granulosa soll ohne die Beteiligung der gonadotropen Wirk-

stoffe erfolgen (193). Erst dann scheinen die Gonadotropine die weitere Entwicklung bzw. den Reifungsprozess zum Graaf'schen Follikel stimulieren zu können (313, 233). Der Graaf'sche Follikel ist der Ausgangspunkt für die gametogenen, östrogenen und progestativen Funktionen, die unter der gonadotropen Steuerung des HVL nach bestimmten Regeln ablaufen. Die Beziehungen zwischen den jeweiligen physiologischen Aufgaben und dem diesen Funktionen entsprechenden Zustandsbildern hat Dubreil (103) aufzuklären versucht. Das für den Reifungsprozeß des Follikels erforderliche FSH (follikelstimulierende Hormon) wird im HVL bereits gegen Ende der vorausgehenden Lutealphyse gebildet, entsprechend den hormonalen Überschneidungen, die den funktionellen Abläufen zugrunde liegen. Im Gegensatz zur klassischen Anschauung wird nach den Ergebnissen neuerer Untersuchungen von einigen Autoren angenommen (222, 166), daß das FSH nicht auf die Granulosazellen, sondern auf die Thekazellen einwirkt, diese zu weiterem Wachstum anregt, ohne daß es zunächst zu einer Hormonproduktion kommt. Die Produktion östrogener Stoffe in der Theka setzt erst unter Mitwirkung des ICSH (interstitialzellenstimulierendes Hormon) ein (385, 414, 11). Die Östrogene wirken nun auf die Granulosazellen ein (52) und regen ihr Wachstum an (154, 311, 372, 427). Der Wachstumsimpuls der Östrogene auf die Granulosazellen bewirkt dann unter Mitwirkung von FSH, ICSH und wahrscheinlich auch eines Androgens die Bildung der Follikelhöhle. Dyroff erscheint es fraglich, für diesen Effekt nur hormonale Leistungen verantwortlich machen zu wollen, da ebenso funktionell-mechanische Momente, die erhöhte Zirkulation und Sekretionssteigerung mitbeteiligt sein müssen.

Die Bildung des Androgens erfolgt unter dem Einfluß des ICSH wahrscheinlich in den sog. Zwischenzellen des Ovars. Die Produktion von FSH hält während der Follikelphyse an und erreicht ihren Gipfel etwa um den Zeitpunkt der Ovulation. Über das Verhalten des FSH während der beginnenden Lutealphase ist nichts Genaues bekannt. Es ist anzunehmen, daß seine Produktion nicht völlig zum Stillstand kommt, auch wenn diese Vermutung nicht durch biologische Hinweise gestützt werden kann. Die funktionellen Vorgänge machen es aber wahrscheinlich, daß die

einzelnen gonadotropen Faktoren in einer sich gegenseitig überschneidenden Dauer wirksam sind. Ihr dosismäßiges Verhältnis ändert sich nach bestimmten Regeln, wie sie sich aus dem Prinzip der hormonalen Rücksteuerung ergeben. Für den physiologischen Ablauf sind mehrere Faktoren nötig, die sich gegenseitig beeinflussen und steuern.

Mit dem Abfall der FSH-Produktion zeigt die ICSH-Bildung im HVL einen langsamen Anstieg. Diese Vorgänge spielen sich noch in der Follikelphase ab, da ICSH an der Östrogenproduktion mitbeteiligt ist. Die Sekretion von ICSH erfolgt zu diesen Zeitpunkt jedoch nicht in einer für eine Luteinisierung ausreichenden Menge (71, 128, 369). Mit Einsetzen der kurzdauernden Östrogenbildung kommt es dann durch Rücksteuerung zu einer Steigerung der ICSH-Produktion. Der Gehalt des HVL an Gonadotropinen (ICSH,LTH) nimmt zu. Durch das Follikelhormon wird durch Rücksteuerung im Sinne eines Bremseffektes die hypophysäre FSH-Bildung allmählich unterdrückt und damit die produktiven Zellelemente des HVL für eine Sekretionsumstellung zur LTH-Produktion frei gemacht. Auf diese Weise wäre allerdings die Einwirkung der Östrogene auf die LTH-Produktion auf indirektem Wege erklärt. Durch die vermehrte Sekretion luteotropher Stoffe erfolgt über die Luteinisierungsvorgänge eine Gewichtszunahme der Ovarien. Mit weiterem Ansteigen des ICSH findet sich bereits präovulatorisch luteinisiertes Gewebe.

Als neue Erkenntnis der Ovarialfunktionen, der cyklischen Beziehungen zwischen HVL und Ovar, wäre die Feststellung anzusehen, daß nicht nur die Gonadotropine des HVL, sondern auch die Steroidhormone, die das Ovar selbst produziert (Östrogene, Progesteron, Androgen), an der Steuerung der Ovarialfunktionen mitbeteiligt sind. Neu ist dabei die Feststellung, daß die östrogenen Substanzen in den Thekazellen gebildet werden sollen und die Granulosazellen nur für die Produktion des Progesterons verantwortlich sein sollen. Unter diesen Gesichtspunkten kann angenommen werden, daß die Granulosazellen erst kurz vor der Ovulation ihre hormonelle Aktivität entfalten. Unter Berücksichtigung strukturell-histotroper und funktionell-ergotroper Gesichtspunkte glaubt man heute, daß FSH allein nicht funktio-

nell (= hormonbildend), jedoch strukturell (= histotrop) wirkt durch seinen Proliferationsreiz auf die Thekazellen, die Ausbildung der Follikelhöhle in Verbindung mit ICSH und einem ovariell produzierten Androgen. Die Ausbildung der Follikelhöhle ist nach Dyroff primär das Ergebnis einer sekretorisch-funktionellen Leistung und erst in zweiter Linie ein hormonelles Ergebnis.

Unter anderem werden auf diese Weise die Voraussetzungen für die Ovulation geschaffen. Erst durch die gemeinsame Einwirkung von FSH und ICSH kommt eine Östrogenbildung in den Thekazellen zustande, während die Androgenproduktion wohl ausschließlich auf das ICSH zurückgeht.

Die Wirkung kurzdauernd applizierter Östrogene für die Luteinisierung und Corp.lut.-Bildung bezeichnet Hohlweg als "Umschalteffekt". Da am hypophysektomierten Tier ein Umschalteffekt nicht zu erkennen ist, kann angenommen werden, daß die Wirkung der Östrogene nur über die Hypophyse zustande kommt (201, 209, 218, 84). Die Annahme einer direkten Wirkung der Östrogene auf das Ovar in dem Sinne, daß sie das Wachstum der Granulosazellen stimulieren, hat dagegen weniger Anerkennung gefunden (152). Für die hypophysäre Wirkung spricht auch, daß die Östrogene die gonadotrope Wirkung von außen zugeführter Gonadotropine bezüglich der Ovarialgewichtszunahme und Zunahme der Zahl und Größe der entstehenden Gelbkörper verstärken (76, 127, 146, 333, 359). Diese als "Collip-Effekt" bezeichnete Wirkung ist auch am hypophysektomierten Tier nachweisbar (425).

Unabhängig von der Frage, ob die Zufuhr von Östrogenen über den HVL wirkt oder direkt am Ovar angreift, ergeben sich für die klinisch-therapeutischen Anwendungen die Möglichkeiten, auf die wir in anderem Zusammenhang eingehen (vergl. S. 133).

Eine langdauernde Zufuhr hoher Östrogendosen bewirkt eine Hemmung der Gonadotropinproduktion im HVL verbunden mit entsprechenden regressiven Veränderungen am Ovar, die schließlich den Verhältnissen entsprechen können, wie sie nach der Hypophysektomie auftreten (60, 145, 190, 237, 225, 273, 291, 329, 370, 377, 388, 329, 409).

Die histologischen Veränderungen des HVL sind uneinheitlich und von Tierart zu Tierart verschieden (107). Unter einem bestimmten FSH/ICSH-Quotienten kommt es dann zusammen mit den funktionellen Abläufen zur Ovulation. Wir nehmen an, daß es sich physiologischerweise bei diesem Wirkungsquotienten um eine individuell rel. konstante Größe handelt. Zum Zeitpunkt der Ovulation ist in der Follikelflüssigkeit bereits Progesteron nachweisbar. Nach einigen Autoren (92, 215) soll das Progesteron den Follikelsprung fördern. Unter Mitbeteiligung eines androgenen Stoffes würde demnach die Ovulation von 4 Hormonen (FSH, ICSH, Andogen, Progesteron) vorbereitet und schließlich funktionell ausgelöst. Gegen den Einwand, daß das präovulatorisch nachweisbare Progesteron in der Follikelflüssigkeit aus gestagenen Steroiden der NNR stammen könnte, sprechen die Untersuchungen von Helmann u. Uhde (194). Diese Beobachtungen zeigen eindeutig, daß die Produktion von Progesteron zeitlich der entsprechenden sekretorischen Umwandlung des Endometriums vorauseilt.

Die aufgrund der vermehrten ICSH und LTH-Produktion ansteigende Progesteronsekretion hemmt dann durch Rücksteuerung die ICSH-Bildung im HVL kurz nach der Ovulation (154). Es kommt infolgedessen zum Stillstand der ICSH-Sekretion (154). Die Luteinisierungsvorgänge sind um diese Zeit abgeschlossen. Synthese und Sekretion von Progesteron stehen unter dem Einfluß des sog. luteotrophen Faktors, der bereits im Endstadium der Follikelphase gebildet wurde und in der Lutealphase in ansteigenden Werten vorhanden ist. Sein funktioneller Einfluß auf die Granulosa beschränkt sich auf die Progesteronbildung, der strukturelle auf eine Hyperplasie der luteinisierten Granulosazellen.

Der Abfall der LTH-Sekretion geht konform mit dem Ende der Luteaphase. Für die Erklärung der Hemmung bzw. das Aufhören der LTH-Produktion gibt es mehrere Hypothesen. Folgende Möglichkeiten werden diskutiert:

1. Die Beendigung kann durch eine irgendwie ausgelöste Einstellung der hypophysären LTH-Produktion zustande kommen.
2. Das im Ovar gebildete Follikelhormon, welches die hypophysäre LTH-Bildung stimuliert, ist am Ende der Luteal-

phase nicht mehr in ausreichender Menge vorhanden. Es fehlt dementsprechend die Anregung zu weiterer LTH-Produktion.

3. Die Beendigung der LTH-Produktion wäre auch als Rücksteuerungseffekt bei ansteigendem Progesterontiter zu verstehen.

Diese Möglichkeiten kämen auch als Grund für die Beendigung der Lutealphase in Betracht, da - wie oben schon bemerkt - der Abfall der LTH-Sekretion mit dem Ende der Lutealphase zeitlich zusammenfällt. Dagegen scheint die starre Auffassung, daß der Gelbkörper nur über eine bestimmte, zeitlich begrenzte Lebensdauer verfügt (154), darüber hinaus aber nicht mehr auf eine LTH-Stimulation zu reagieren vermag, die funktionellen Verhältnisse und die Anpassungsfähigkeit biologischer Reaktionen u.E. nicht ausreichend zu berücksichtigen. Wie wir zeigen konnten, sprechen klinische und experimentelle Ergebnisse dagegen, da es ohne weiteres möglich ist, die Funktionstüchtigkeit des Gelbkörpers zu verlängern (vergl. S. 133). Demnach ist die Lebensdauer des Corp. lut. nicht naturgemäß konstant, sondern der Follikelhormonspiegel, hypophysäre Luteinisierung und luteotrophe Effekte bestimmen die Dauer seiner Funktionstüchtigkeit. Je nach Gegebenheit können also zahlreiche Faktoren verändernd einwirken.
U.E. kommt die Möglichkeit weniger in Betracht, daß der Gelbkörper von sich aus seine cyklische Wirkungszeit bestimmt und dabei gleichbleibende zeitliche Bedingungen erfüllt. Dagegen sprechen die klinischen Erfahrungen, die Lebensfähigkeit und die Funktionstüchtigkeit mit Gonadotropinen oder auch durch Substitution von ovariellen Steroiden verlängern können (78, 43, 192, 431, 342, 381).

Es ist vielmehr anzunehmen, daß das Absinken des Follikelhormonspiegels am Ende des Cyklus und der Abfall der LTH-Werte in wechselseitiger Abhängigkeit zustande kommt. Unter diesen Voraussetzungen würde das Stimulans zur Produktion von LTH durch die Hypophyse und damit die Anregung des Corpus lut. fehlen.

> Produktion und Sekretion der gonadotropen Wirkstoffe kann im allgemeinen nicht als eine völlig selbständige, unabhängige Regulation verstanden werden, sondern mehr im Sinne einer Homoiostasis (Sayers) (351, 352), wobei der Steroidhormontiter des Blutes, die diencephalen Impulse und das Vegetativum als maßgebliche Faktoren die Funktionen beeinflussen können (156, 202).

Aus anderen Untersuchungen geht hervor, daß dieses hormonelle System weitgehend geschlossen ist und von anderen Faktoren unabhängig zu funktionieren vermag, wie Transplantationsversuche zeigen. Hypophyse und Ovar können in dem Augenblick ihre biologische Aufgabe wieder erfüllen, wo sie wieder unter Gefäßversorgung stehen. Es ist demnach möglich, daß sie ihre hormonelle Wechselbeziehungen trotz fehlender Innervation erfüllen (167, 186, 177, 406, 426) und selbst auch Vorgänge, wie die Ovulation, steuern können (187, 189, 435, 441). Die nervös, unabhängige Selbstregulation geht am besten daraus hervor, daß die Reaktion zwischen Hypophyse und Gonaden auch noch nach Durchschneidung des Hypophysenstieles erhalten bleiben können, wie experimentell gezeigt werden konnte (188, 396, 24, 83). Die veränderten Funktionen zwischen Hypophyse und Gonaden, die unter den genannten Bedingungen auftreten können, sind mehr quantitativer und weniger qualitativer Natur. Sie sprechen nicht prinzipiell gegen die Möglichkeit der Selbständigkeit der hormonell-humeralen Reaktionen zwischen der Hypophyse und den Gonaden (2, 85, 110, 228, 275, 298) besonders im Hinblick auf den luteotrophen Faktor des HVL.

Andere tierexperimentelle Untersuchungen lassen darauf schließen, daß LTH in gewissem Umfange in einem antagonistischen Verhalten dem FSH gegenübersteht. Als Beweis dafür mag geltend gemacht werden, daß es bei Vögeln möglich ist die FSH-Funktion völlig zu sperren (102, 109, 124, 229, 25) und auch bei Ratten eine Östrushemmung durch das LTH nachgewiesen werden konnte (169). In die Milz transplantierte Ovarien reagieren auf die von der Hypophyse ausgehenden, gonadotropen Hormone mit typischer Entwicklung. Während der Lactationsperiode, einem Stadium erhöhter LTH-Produktion in der Hypophyse, zeigen sich

an transplantierten Ovarien keine Wachstumseffekte, so daß angenommen werden muß, daß LTH die Bildung der übrigen, insbesondere aber die FSH-Produktion hemmt (83, 84). Aus eigener Erfahrung können wir in diesem Zusammenhang ergänzen, daß die gewöhnliche Aschheim-Zondeck-Reaktion, wenn die Tiere gleichzeitig mit LTH behandelt werden, beeinträchtigt wird und positive Reaktionen unterdrückt werden können. Für diesen Effekt sind jedoch rel. hohe Dosen LTH notwendig, die unter physiologischen Bedingungen nicht im Urin zur Ausscheidung kommen. Eine nennenswerte Beeinträchtigung der A-Z-R ist daher von dieser Seite nicht zu erwarten. Diese Beobachtung erklären wir uns so, daß auch hier das LTH den hypophysären Anreiz zur Follikelreifung zu unterdrücken scheint. Ähnliche Vorgänge müssen wohl auch für die Verhältnisse im Ovar während der Schwangerschaft angenommen werden.

Ob die sog. Lactationsamenorrhoe der Frau durch die gleichen Regulationen zustande kommt ist noch nicht bewiesen, wäre aber denkbar. Eine deutliche Abhängigkeit zwischen der Dauer der Lactation und der Amenorrhoe ist im allgemeinen jedenfalls vorhanden. Die in zahlreichen Fällen trotz fortgesetzter Lactation vorhandenen cyklischen Veränderungen und normale Menstruationsblutungen erlauben uns mit den heutigen Erkenntnissen diese Vorgänge noch nicht ausreichend zu erklären. Die gleichen Beziehungen kommen in sog. Chiari-Frommel'schen Syndrom ebenfalls deutlich zum Ausdruck. Die eigentliche Ursache dieses komplexen Krankheitsbildes ist bisher nicht bekannt. Amenorrhoe und Atrophieerscheinungen am Genitaltrakt machen aber u.E. nicht unwahrscheinlich, daß die sog. "tropen" Funktionen des HVL gestört bzw. aufgehoben sind. Man könnte annehmen, daß die antagonistische Wirkung des LTH zum FSH der pathologischen Störung ursächlich zugrunde liegt. Nach unseren Erkenntnissen würde die Applikation hoher Östrogendosen das Krankheitsbild über den Weg einer Blockierung der LTH-Produktion beeinflussen müssen. Über eigene praktische Erfahrungen können wir jedoch nicht berichten. Die hormonalen Verhältnisse der gelegentlich vorkommenden pathologischen Lactationen, die vereinzelt nach Kastration beobachtet werden, sind in ihrer Genese unklar.

Hirntumoren, darunter besonders die sog. chromophoben Adenome des HVL gehen in einzelnen Fällen mit Lactationserscheinungen einher. Häufig findet man geschwulstartige Veränderungen im HVL mit dem Bild einer Gynäkomasthie kombiniert. Bemerkenswert ist bei diesem Krankheitsbild die vermehrte LTH Ausscheidung im Urin. In voller Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen steht auch die Beobachtung, daß bei Männern mit einem Chorionepitheliom Lactation und erhöhte LTH-Ausscheidung im Harn nachweisbar sind.

Histologische Untersuchungen zeigen, daß mit der Funktionstüchtigkeit des Gelbkörpers eine Entwicklungshemmung der Graaf'schen Follikel konform geht (169). Diese Hemmungswirkung ist über den Weg einer Blockierung des FSH-Einflusses ohne Schwierigkeiten denkbar. Auf diese Weise ließe sich auch eine Art Selbststeuerung der LTH-Funktion im Rahmen der allgemeinen hormonellen Funktion ableiten.

Die unter einem optimalen FSH/ICSH-Wirkungsquotienten zustande gekommene maximale Östrogen-Produktion durch den Follikelapparat stimuliert die Hypophyse im Rahmen der gebotenen physiologischen Verhältnisse zur Produktion und Sekretion von LTH. Das durch das ICSH luteinisierte Gewebe wird durch das LTH jetzt zur Synthese und Sekretion von Progesteron angeregt, welches seinerseits die Bildung von ICSH in der Hypophyse wieder hemmt. Gleichzeitig wirkt aber das LTH über die Hemmung des FSH auf die Östrogenproduktion ein, vermindert diese und baut damit den eigenen Stimulator langsam ab. Die Folge ist eine Verminderung der hypophysären Produktion. Die LTH-abhängige Progesteronsekretion geht ebenfalls zurück. Damit entfällt mehr und mehr die Blockierung der ICSH-Bildung in der Hypophyse, die bekanntlich unter der Kontrolle des Progesterons steht. Mit dem Abfall der LTH-Produktion fällt die Hemmung auf das FSH langsam weg, und es kann unter erneuter Anregung des FSH zum Follikelwachstum kommen. Diese Regelung der hormonalen Funktionen ist bei den cyklisch östrierenden (ovulierenden), wie auch bei den nicht spontan ovulierenden Tieren gleichermaßen nicht ausgeschlossen.

Die luteotrophen Vorgänge in der Schwangerschaft

Für die Verhältnisse der Gravidität würde sich unter Einbeziehung der eigenen Untersuchungen folgendes Bild ergeben.

Bei Eintritt der Schwangerschaft wird aus dem Corp.lut. menstruationis ein Corp.lut. graviditatis d.h. die Funktion des Gelbkörpers muß nicht nur verlängert, sondern seine Funktionstüchtigkeit gesteigert werden, wie man den höheren Pregnandiol-Ausscheidungswerten entnehmen kann. Dazu sind zusätzliche Regulationen erforderlich.

Die Sekretionsaktivität des Gelbkörpers steht unter dem Einfluß des luteotrophen Hormons, dem LTH. Für die Anregung der hypophysären Produktion scheint das Follikelhormon verantwortlich zu sein. Die Bedeutung der Östrogene kann man auch so erklären, daß sie unterschwellige LTH-Dosen wirksam werden lassen und den Effekt einer überschwelligen Dosis noch weiter steigern (278). Die Bildung körpereigener Östrogene setzt aber einen für diesen Zweck optimalen Wirkungsquotienten zwischen FSH und ICSH voraus. Dieser ist, wenn wir menschliche Verhältnisse annehmen wollen, im Falle einer Gravidität mit den entsprechenden Belastungen nicht gegeben, weil die menschliche Hypophyse nachweislich (48, 429) nur wenig ICSH produziert. Der cyklusmäßige Wirkungsquotient FSH/ICSH würde für die Bedingungen der Schwangerschaft nicht ausreichend sein. Einmal nicht für die notwendigen Luteinisierungsvorgänge, zum anderen nicht für die Bereitstellung ausreichender Mengen östrogener Stoffe, die für die Stimulation der LTH-Produktion notwendig sind. Das Corp.lut. müßte demnach der Regression verfallen.

Nach den vorliegenden Ergebnissen scheint hier das HCG als extrahypophysärer Wirkstoff der Plazenta einzugreifen und in seiner dem ICSH vergleichbaren Wirkung die Luteinisierungsvorgänge zu unterstützen (luteotrophe Wirkung). Außerdem veranlaßt es die Hypophyse zur Sekretion des LTH (luteotrophes Hormon). Es übernimmt zu diesem Zeitpunkt die Stimulation der Hypophyse an Stelle der Östrogene, die in diesem Stadium nicht in ausreichender Menge zur Verfügung stehen. Im weiteren Ver-

lauf der Schwangerschaft sind durch das Hinzukommen der anderen hormonalen Funktionen der Plazenta völlig andere Voraussetzungen gegeben. Diese sind heute noch nicht bis ins Einzelne zu überblicken.

Die oben angeführten Regulationen sind zumindest in den ersten Schwangerschaftsmonaten anzunehmen, d.h. in der Zeit, wo das Corp.grav. durch Funktionssteigerung die zusätzlichen Anforderungen erfüllt, bis es im weiteren Verlauf der Gravidität dann durch die plazentare Steroidbildung entlastet wird.

Wir möchten noch einmal darauf hinweisen, daß die hier mitgeteilten Ergebnisse auf Untersuchungen an Ratten und Kaninchen beruhen. Alle Funktionen und die sich daraus ergebenden theoretischen Folgerungen sind auf die Verhältnisse dieser Tiere zu beziehen. Wir haben mehrfach darauf hingewiesen, daß die hier gewonnenen Ergebnisse nicht ohne weiteres auf die Verhältnisse am Menschen übertragen werden können. Dennoch stellen alle neuen Erkenntnisse auf tierexperimenteller Ebene Ausgangspunkte dar, diesbezügliche Funktionen beim Menschen zu prüfen und zu untersuchen.

Pathologische Störungen im luteotrophischen System

Nach den Mitteilungen über Vorkommen und Ausscheidungsverhältnisse des LTH beim Menschen darf angenommen werden, daß dieser Wirkstoff auch bei den hormonalen Regulationen am Menschen eine Rolle spielt. Dafür spricht die Tatsache, daß auch bei der Frau eine kombinierte Applikation von HCG und LTH eine Verschiebung der Menstruation verursacht die eine weitere Aufrechterhaltung eines funktionstüchtigen Gelbkörpers voraussetzt.

Ebenso kann die glandulär-cystische Hyperplasie des Endometriums, eine infolge einer Hyperfollikulinie übermäßig wachstumsgesteigerte Uterusschleimhaut, mit dem klinischen Bild der verlängerten und verstärkten Blutung, wie andererseits die Insuffizienz des Gelbkörpers, mit der Behandlung von HCG und LTH beeinflußt werden. Obwohl nach klinischen

Erfahrungen die Möglichkeit besteht mit hohen Dosen von HCG die Lutealphase zu verlängern, kann doch angenommen werden, daß das LTH auf irgendeine Weise an dem luteotrophen Effekt des HCG auch beim Menschen beteiligt ist, zumal eine deutliche, zunehmende LTH-Ausscheidung im Urin während der HCG-Behandlung zu beobachten ist. Ob für die Verhältnisse am Menschen die gleichen Mechanismen in Frage kommen, wie es bei der Ratte zu beobachten ist, läßt sich nicht mit Bestimmtheit sagen. Sicher ist aber, daß zumindest ein synergistischer Effekt von HCG und LTH vorhanden ist.

Wenn man von der Annahme ausgeht, daß der hypergonadotropen Form der cystisch-glandulären Hyperplasie eine Erhöhung der FSH-Komponente zugrunde liegt, so wäre eine therapeutische Beeinflussung durch einen Bremseffekt der FSH-Bildung durch LTH, der im Tierexperiment ohne weiteres realisierbar ist, unter den bekannten Einschränkungen auch beim Menschen denkbar. Beim ausgebildeten Krankheitsbild der cystisch-glandulären Hyperplasie kann dieser Effekt nicht zustande kommen, weil man annehmen muß, daß die LTH-Produktion durch die krankheitsbedingte Hyperfollokulinie unterdrückt ist. Für die Klinik ergeben sich hier Hinweise für neue therapeutische Konsequenzen.

Wir haben in einigen Fällen positive Ergebnisse feststellen können. Es ist aber anzunehmen, daß die Unkenntnis der optimalen Wirkungsquotienten im Einzelfall und die dadurch bedingte mangelnde Anpassungsmöglichkeit, sowie die Artspezifität der verwendeten Eiweißkörper in ihrem nicht ausreichenden Reinheitsgrad zunächst noch besseren therapeutischen Erfolgen den Weg versperren. Unsere Untersuchungen gehen in dieser Richtung aber weiter.

Andererseits wäre es ohne weiteres denkbar, daß eine anhaltende LTH-Stimulation zur verzögerten Abstoßung der Uterusschleimhaut führen kann. Diesem Vorgang würde dann das Bild der verlängerten Entzugsblutung zugrunde liegen. Hier wäre therapeutisch eine Östrogenbehandlung indiziert, um die hypophysäre LTH-Produktion zu hemmen. Es würde dann kein LTH

für weitere Stimulation der Corp.lut.-Bildung zur Verfügung stehen und eine Verkürzung der Progesteron-Entzugsblutung resultieren.

Nach unseren Vorstellungen wäre für das Krankheitsbild der cystisch-glandulären Hyperplasie des Endometriums folgende Genese möglich. Gleichgültig, ob die primäre Ursache in einer hypophysären oder ovariellen Störung liegt, kommt es zu einer Hyperfollikulinie wobei die östrogenen Substanzen die LTH-Produktion im HVL bremsen bzw. völlig blockieren. Es kommt zu keiner aktiven Sekretion von Progesteron.

Die Wirkung östrogener Substanzen auf die luteotrophe Wirkung beim Menschen.

Östrogenzufuhr in den ersten Cyklustagen bewirkt durch die Hemmung der FSH-Produktion (Brems- oder Rücksteuerungseffekt(200) eine Verschiebung der nachsten Menstruation (Verschiebungseffekt) (391).

Die Zufuhr geringer Östrogendosen kurz vor oder während der Ovulation führt zu einer Stimulierung des ICSH und LTH (Entlösungseffekt)(74) und damit zur Ausbildung eines besonders funktionstüchtigen Corpus luteum sowie entsprechende Reaktionen an den Erfolgsorganen.

Höhere Östrogendosen haben einen entgegengesetzten Effekt. Sie verhindern durch Hemmung der hypophysären LTH-Produktion die Ausbildung der Gelbkörper, erkennbar an der verminderten Pregnandiolausscheidung (307) und der nicht veränderten Kurve der Basaltemperatur (212).

Diese wenigen Merkmale deuten unzweifelhaft darauf hin, daß die gonadotropen Wirkstoffe beim Menschen ähnliche bzw. gleichartige Funktionen haben.

Wir haben uns in den vorliegenden Untersuchungen mit der physiologischen Bedeutung des HCG auseinandergesetzt und insbesondere die Frage der luteotrophen Wirkung dieses Stoffes diskutiert. Es ist bekannt, daß die Lebensdauer eines Corp.

..t. bei der nicht graviden Frau durch die Zufuhr genügend
..her HCG-Mengen verlängert werden kann, wenn HCG vor dem
..ginn der physiologischen Regression des Gelbkörpers gegeben
..rd. Die weitere Aufrechterhaltung eines funktionstüchtigen
..lbkörpers ist dosisabhängig d.h. daß mit zunehmender zeit-
..cher Ausdehnung höhere HCG-Dosen erforderlich werden. Weiter
..t bekannt, daß das Endometrium unter dieser Einwirkung einen
..rädezidualen Aufbau erfährt und die Pregnandiolausscheidung
..n Urin bestehen bleibt.

Hier ist zu betonen, daß dieser Effekt nur in Gegenwart einer funktionstüchtigen, intakten Hypophyse möglich ist. ..ntersuchungen am hypophysektomierten Tier haben gezeigt, daß ..ine direkte Einwirkung auf das Endometrium nicht stattfindet. ..ie Wirkung ist demnach an die Hypophyse gebunden und kommt ..ur unter Zwischenschaltung des HVL zustande. Die Ergebnisse ..prechen dafür, daß durch die Applikation von HCG indirekt die ..n Corp.lut. stattfindende Progesteronsynthese erhalten bleibt. ..egen dieser Eigenschaft hat man dem HCG einen luteotrophen ..ffekt zugeschrieben.

An unseren Ergebnissen konnten wir zeigen, daß der an ..agern darstellbare luteotrophe Effekt des HCG auf indirektem ..ege, über die Stimulierung des eigentlichen hypophysären, ..uteotrophen Faktor - LTH - zustande kommt.

HCG ist demnach nur indirekt luteotroph, wie experimen- ..ell am hypophysektomierten Tier gezeigt werden konnte. ..ieser Effekt ist für die Primaten bisher noch nicht sicher ..ewiesen. Entsprechend experimentelle Untersuchungen schließen ..ich für unsere Mittel derzeit noch aus.

Die Frage des luteotrophen Effektes des HCG beim Menschen. (Der Synergismus zwischen LTH und HCG)

Es besteht kein Zweifel daran - wir erwähnten es bereits - ..aß HCG, welches in seiner Wirkung mehr dem ICSH vergleichbar ..st, bei Primaten einen luteotrophen Effekt hervorrufen kann, ..ogegen der gleiche Effekt mit dem LTH allein - dem eigent- ..ichen luteotrophen Prinzip der Hypophyse - nicht zustande

kommt. Aus diesem Grunde scheidet zunächst noch eine sinngemäße Übertragung der Funktionsmechanismen, wie sie an Nagern gut und reproduzierbar zu verfolgen sind, auf den Menschen aus. Diese scharfe Trennung ist aber nach neueren Untersuchungen nicht mehr in aller Konsequenz aufrecht zu erhalten, seitdem es möglich ist durch Verabreichung rel. geringer Dosen HCG und LTH die Funktion des Corp.lut. über längere Zeit aufrecht zu erhalten. Bemerkenswert ist dabei, daß weder nach Applikation von HCG noch von LTH allein diese Wirkung zu beobachten ist.

Nach diesen Feststellungen gewinnt man den Eindruck, daß das endogen gebildete LTH irgendwie an den luteotrophen Effekt des HCG beteiligt ist und eine synergistische Beziehung zum HCG aufweist. Diese Annahme scheint umso mehr berechtigt, als in Kombination mit dem LTH nur rel. geringe HCG-Dosen für das Zustandekommen eines luteotrophen Effektes notwendig sind, die allein nachweislich völlig unwirksam wären. Aus diesen Ergebnissen hat man die Vermutung abgeleitet, daß auch die Erhaltung des Corp.lut.grav. unter dem Einfluß des HCG steht. Tatsächlich ist in der Schwangerschaft festzustellen, daß dem Anstieg der HCG-Produktion eine Erhöhung der Progesteronsekretion parallelläuft. In wieweit auch die ansteigende LTH-Kurve der Gravidität, die man an sich erwartet, in diese Funktionen eingeordnet werden kann, läßt sich heute noch nicht überblicken.

Segaloff u.Mitarb. sahen eine erhöhte LTH-Ausscheidung im Urin nach Injektion von HCG. Diese Ergebnisse machen es u.E. nicht unwahrscheinlich, daß auch für menschliche Verhältnisse ähnliche Regulationen in Frage kommen, wie sie an Nagern kontrolliert werden konnten, nämlich die, daß möglicherweise auch hier das HCG über den HVL anregend auf die Freigabe eines luteotrophen Prinzipes wirkt. Dabei muß offen bleiben, ob beim Menschen das LTH der entscheidende luteotrophe Faktor ist. Zahlreiche Ergebnisse scheinen die Vermutung in diese Richtung zu lenken.

Wir erinnern an die Tatsache, daß bei entsprechenden Untersuchungen artfremde, komplexe Eiweißverbindungen in einem

artfremden Mischungsverhältnis der einzelnen wirksamen Faktoren zur Anwendung gelangen. Dennoch deuten einzelne Merkmale darauf hin, daß auch beim Menschen das LTH in irgendeiner Beziehung zur Progesteronsynthese steht, damit also luteotroph wirkt. Cyklische Schwankungen, der Ausscheidungsgipfel in der Gelbkörperphase und die zunehmende Produktion in der Gravidität weisen auf eine Beteiligung des LTH an den hormonellen Funktionen beim Menschen hin. Das synergistische Verhalten von HCG in Verbindung mit dem LTH kann im Tierexperiment an der Ratte, wie wir zeigen konnten, auf einen Stimulationseffekt zurückgeführt werden. Ob der gleiche Wirkungsmechanismus auch für den Menschen in Betracht kommt, läßt sich noch nicht sicher entscheiden. Aus der Tatsache aber, daß auch beim Menschen ein gleiches synergistisches Verhalten von HCG und LTH nachweisbar ist, läßt sich die Vermutung ableiten, daß ähnliche Funktionen nicht ausgeschlossen sind. Diese Fragen müßten durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

Die hormonalen Funktionen bei der Pseudogravidität des Menschen.

Unter Berücksichtigung der Tatsache, daß HCG und LTH in Synergismus einen klaren luteotrophen Effekt mit Aufrechterhaltung der Funktion des Corp.lut. hervorrufen können und diese Wirkung über längere Zeit möglich ist, halten wir die Anwendung dieser Stoffe zur therapeutischen Auslösung einer Pseudogravidität für indiziert. Für den gleichen therapeutischen Effekt werden besonders in der letzten Zeit hohe Progesterondosen kombiniert mit einem abgestuften Östrogenanteil empfohlen. An der lokalen Wirkung dieser Präparate ist nicht zu zweifeln. Doch sollte man sich keiner Täuschung über den grundlegenden Unterschied beider Zustandsbilder hingeben. Diese durch reine Substitution von Progesteron zustande gekommene Wirkung am menschlichen Genitale ist zwar dem Zustandsbild der sog. Pseudogravidität im gewissen Sinne ähnlich. Der wesentliche Unterschied gegenüber der echten Pseudogravidität dürfte aber in der endokrinen Gesamtstruktur begründet sein.

Die echte Pseudogravidität verdankt ihren Bestand einer verstärkten Wirkung des luteotrophen Faktors des HVL, dem LTH. Dagegen ist der durch exogene Progesteronzufuhr bedingte pseudogravide Zustand unabhängig von dem momentanen LTH-Spiegel.

Da HCG und LTH in kombinierter Anwendung auch am Menschen eine luteotrophe Wirkung entfalten, empfehlen wir im Falle einer indizierten Pseudogravidität eine Behandlung mit diesen Substanzen, da u.E. auf diese Weise eine diesem Zustandsbild entsprechende Hormonkonstellation eher erreicht wird, als über den Weg der alleinigen Substitution von Progesteron.

Es ist heute noch nicht möglich, die physiologischen Aufgaben des HCG umfassend darzustellen, da uns überall neue, ungeklärte Fragen begegnen, und man sich einer endlosen Problematik gegenübersieht.

Die gonadotrope Bedeutung des HCG beim Mann.

Auch beim Mann übt HCG gonadotrope Funktionen aus. Die Applikation von HCG verursacht einen Anstieg der Testosteron - und 4 - Androston - 3, 17 dion -Produktion und Sekretion, nachweisbar am erhöhten Serumspiegel im Blut, das aus der Vena spermatica entnommen wird (40). Parallel dieser Sekretionssteigerung (168) geht eine Hypertrophie der Interstitialzellen des Hodens (111). Beide Symptome werden aber als sekundäre bedingte Effekte des HCG gewertet (40).

Die Frage der Artspezifität der Gonadotropine.

Wir sind uns bewußt, daß bei allen Untersuchungen neben der Frage der Artspezifität der gonadotropen Hormone ihre offensichtlich speziesgebundenen Mischungsverhältnisse unterschiedlich sind. Man muß sich bei der Auswertung tierexperimenteller, biologischer Untersuchungen immer der Tatsache bewußt sein, daß es sich um Proteohormone handelt und daß diese Eiweißkörper sind, die von Art zu Art einen unterschiedlichen Aufbau zeigen. Die gonadotropen Einzelfaktoren lassen sich nicht nur chemisch und chemisch-physikalisch, sondern

auch immunbiologisch trennen. Es ist so ohne weiteres denkbar, daß im einzelnen Fall die biologische Wirksamkeit durch eine immunbiologische Reaktion maskiert werden kann, oder aber daß der fremde Eiweißkörper nicht übernommen, sondern abgebaut und ausgeschieden wird. Auf dieser Basis ist möglicherweise auch die Abhängigkeit der biologischen Aktivität des HCG von seinem Lösungsmedium zu erklären. In organischen Lösungsmitteln mit hoher Molekulargröße war die Aktivität des HCG stärker als z.B. in physiologischer NaCl-Lösung (261).

Unter den gegebenen Verhältnissen darf man annehmen, daß die gonadotropen Wirkstoffe Eiweißkörper mit bestimmten innermolekularem Gefüge sind, von denen einzelne Wirkungen bekannt sind, nicht jedoch nähere Einzelheiten. Die vorhandene "Wirkungseinheit", die den biologischen Charakter bestimmt, kann demnach in Eiweißmoleküle verschiedener Zusammensetzung eingebaut sein, ohne daß ihre biologische Aktivität dadurch verändert werden muß. Diese Überlegung und die Möglichkeit, daß die einzelnen Wirkungsquotienten, die im cyklischen Geschehen zwar im Einzelfall eine konstante Größe darstellen mögen, von Fall zu Fall jedoch anders liegen können, deuten die erheblichen Schwierigkeiten, die allgemein der Deutung einer biologischen Reaktion anhaften, nur eben an.

Wir sind aber auf den Umweg des Tierversuches angewiesen und müssen die zahlreichen Fehlerquellen in der biologischen Auswertung einkalkulieren, da entsprechende experimentelle Untersuchungen am Menschen nicht möglich sind.

Schlußbetrachtung

Es ist nicht sicher bekannt, ob beim Menschen das LTH in die cyklischen Funktionen eingeschaltet ist. Für die klinische Forschung an der Frau geeignete Methoden konnten bisher nicht in ausreichendem Maße angewendet werden. Nachweis und physiologisches Verhalten am Menschen schließen nicht aus, daß auch beim Menschen ein luteotrophes Prinzip in die hormonellen Regulationen eingeschaltet ist. Methodisch und zahlenmäßig müssen die bisher vorliegenden Ergebnisse von Untersu-

chungen am Menschen noch als unzureichend bezeichnet werden. Wenn wir in Anbetracht der noch spärlichen Erkenntnisse über die Bedeutung des LTH beim Menschen trotzdem versuchen, diesen luteotrophen Faktor in die cyklischen Funktionen einzuordnen, so haftet diesem Versuch ein gewisser spekulativer Charakter an. Die im Tierexperiment gewonnenen Erkenntnisse wären auch bei menschlichen Verhältnissen ohne weiteres denkbar, zumal viele Zeichen für diese Möglichkeit sprechen. Im gleichen Maße wären pathologische Funktionen auch mit Hilfe einer primären Störung innerhalb des luteotrophen Prinzipes ohne weiteres deutbar und lassen sich mühelos folgern. Diese Hypothesen sind aber noch endgültig zu beweisen.

Obwohl diese Basis für die menschlichen Verhältnisse noch fehlt, fällt bei aller Zurückhaltung und objektiver Kritik bezüglich der physiologischen Bedeutung des LTH aber auf, daß in zahlreichen Schriften, Lehr- und Handbüchern das LTH in seiner Eigenschaft als Gonadotropin III anerkannt und ihm eine luteotrophe Wirkung zugesprochen wird, nicht nur für die Verhältnisse im Tierexperiment, sondern auch für die menschlichen Funktionen, was uns bei objektiver und kritischer Betrachtung als etwas voreilig erscheint.

Trotz der bisher vorliegenden Ergebnisse in ihrer Gesamtheit und der Möglichkeit, diese in die menschlichen Funktionen einordnen zu können, soll nicht vergessen werden, daß wir noch weit davon entfernt sind, die Zusammenhänge im Einzelnen zu überblicken.

Experimentelle Ergebnisse und klinische Beobachtungen ermutigen zwar zu der Annahme, die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Zusammenhänge in die luteotrophen Funktionen des Menschen einordnen zu dürfen, sie kann jedoch nicht als Tatsache vorweggenommen werden. Die zahlreichen Arbeitshypothesen, auf die wir hingewiesen haben, sollen demgemäß auch nur Ausgangspunkte für weitere experimentelle und klinische Forschung darstellen.

V. T e i l

Z u s a m m e n f a s s u n g

In einem kurzen zusammenfassenden Überblick über unser heutiges Wissen über die gonadotropen Wirkstoffe haben wir bei der Besprechung der physiologischen, chemischen, physikalisch-chemischen und biologischen Eigenschaften der Gonadotropine im jeweiligen Zusammenhang die noch vorhandenen ungelösten Probleme erwähnt und auf die zahlreichen Fragen hingewiesen, die bisher noch nicht geklärt werden konnten. Der kurzen Betrachtung des follikelstimulierenden Hormons und des Luteinisierungshormons der Adenohypophyse haben wir eine etwas ausführlichere Besprechung des sog. lutectropen Hormons des HVL angeschlossen.

Entsprechend der "duotropen" Wirksamkeit dieses Wirkstoffes wurde sowohl der luteotrope Effekt, als auch seine mammogene Wirkung im Einzelnen beschrieben. Im Interesse eines lückenlosen Überblicks über den augenblicklichen Stand unserer Erkenntnisse haben wir uns nicht allein auf die Wiedergabe der heutigen Forschungsergebnisse beschränkt, sondern die physiologische Bedeutung und Funktion des luteotropen Hormons (LTH) durch kritische Beurteilungen zu charakterisieren versucht.

Von den zahlreichen Fragen, die dabei diskutiert wurden, haben wir einige grundsätzliche ausgewählt und in eigenen Untersuchungen zu klären versucht.

> Die Frage nach der Lokalisation der LTH-Produktion, speziell die Frage, ob es eine extrahypophysäre LTH-Produktion gibt, wird im ersten Teil der Arbeit beantwortet.

Anregungen zu diesen Untersuchungen stellen ernsthafte Diskussionen aus neuerer Zeit dar, wonach eine LTH-Produktion auch außerhalb der Hypophyse für möglich erachtet wird. Dabei soll die Leber möglicherweise als extrahypophysärer Bil-

dungsort in Betracht kommen und in der Schwangerschaft die Plazenta die Aufgabe der LTH-Bildung übernehmen.
Diese Frage, die u.E. von grundsätzlicher physiologischer Bedeutung ist, wurde tierexperimentell, nach vorhergehender chemischer Aufarbeitung von Gewebsmaterial bzw. Blut mit Hilfe spezieller, biologischer Testmethoden, zu beantworten versucht.
Im Einzelnen konnte nachgewiesen werden, daß:

1. In der Rattenleber unter physiologischen Voraussetzungen LTH-Aktivität nachweisbar ist. Das trifft zu, wenn die chemisch-biologische Bestimmung im Östrusstadium bzw. unmittelbar danach durchgeführt wird, weil im Östrusstadium die Rattenhypophyse den höchsten LTH-Gehalt aufweist. Die chemische Aufarbeitung erfolgte nach der von Lyons angegebenen, von Li modifizierten Methode zur Reindarstellung von LTH. Die biologische Bestimmung wurde nach der Methode der lokalen Stimulierung am Epithel des Taubenkropfes (Lyons u. Page) durchgeführt.

2. Die quantitative Auswertung der LTH-Aktivität gegen das internationale Standard-Präparat (LTH) ergab für eine Gesamtmenge von 50 g Rattenleber einen LTH-Wert von weniger als 0,05 Gamma. Dieser Wert bezieht sich auf ein Kollektiv von 7 - 10 Tieren.
Die experimentellen Voraussetzungen des verwendeten Tiermaterials waren homogen.

3. Die Applikation östrogener Substanzen - bei den eigenen Untersuchungen 20 Microgramm Östradiol-Benzoat in Sesamöl i.m. - vor dem Östrusstadium stimuliert die Rattenhypophyse zu erhöhter LTH-Produktion.
Untersuchungen der Leber unter den gleichen methodischen Voraussetzungen wie in 1. und 2. ließen nach Stimulation mit Östradiol-Benzoat eine Erhöhung der LTH-Aktivität im biologischen Nachweis erkennen.

4. Nach Anregung der LTH-Produktion in der Hypophyse durch Östradiol-Benzoat weist auch die Leber eine höhere LTH-Aktivität auf. Diese entspricht im Vergleich zum Kontroll-

versuch gegen das int. LTH-Standard-Präparat etwa einem Wert von 0,05 Gamma bezogen auf ein Kollektiv von 7 - 10 Tieren bzw. 50 g Rattenleber. Die Reaktion ist gegenüber der unbehandelten Kontrolle (2.) deutlich verstärkt.

5. Nach Hypophysektomie im Östrusstadium ist in der Rattenleber keine LTH-Aktivität im biologischen Versuch mehr nachweisbar. Alle durchgeführten Reaktionen zeigten signifikante, negative Ergebnisse.
   Bis zum 3. Tag nach der operativen Entfernung der Hypophyse sind noch positive Reaktionen möglich. Der entsprechend der Zeitdauer zunehmende Aktivitätsverlust und die völlig negativen Ergebnisse ab 4. Tag post operationem lassen erkennen, daß die Leber nur als Speicherungsorgan bzw. für Durchlauffunktionen in Betracht kommt.

6. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, daß in der Leber keine eigene LTH-Produktion stattfindet.
   Die Bildung von LTH scheint demnach allein an die Hypophyse gebunden zu sein.

Bei der Untersuchung der Frage einer möglichen extrahypophysären LTH-Produktion durch die Plazenta war im Einzelnen folgendes festzustellen:

7. In der Rattenplazenta ist unter physiologischen Bedingungen biologisch LTH-Aktivität nachweisbar.
   Die höchste Aktivität findet sich in der Plazenta des 12. Schwangerschaftstages.

8. Die Plazenta vom 11. Schwangerschaftstag enthält keine LTH-Aktivität, wenn die Tiere am 8. Tag der Gravidität hypophysektomiert wurden,

9. Auch Plazenten vom 16. Schwangerschaftstag enthalten keine LTH-Aktivität, wenn die Tiere am 12. Tag der Gravidität hypophysektomiert wurden.

   Die Hypophysektomie vor dem 12. Tag der Schwangerschaft führte ausnahmslos zur vorzeitigen Ausstoßung der Schwangerschaftsprodukte.
   Die Hypophysektomie am 12. Tag der Gravidität führte in den eigenen Versuchen ebenfalls zu vorzeitiger

Beendigung der Schwangerschaft. Diese Ergebnisse wurden als Nebenbefund erhoben.

10. Der Gehalt der Plazenta an LTH-Aktivität ist sonach abhängig von der Gegenwart einer intakten Hypophyse. Nach operativer Entfernung der Hypophyse findet sich in der Plazenta keine LTH-Aktivität. Die Plazenta scheint demnach nicht im Stande zu sein von sich aus LTH zu produzieren.

11. Nach den Ergebnissen 1. - 10. ist anzunehmen, daß eine Produktion von LTH an die Hypophyse gebunden ist. Eine extrahypophysäre LTH-Produktion findet nicht statt, auch nicht in der Plazenta.

Im zweiten Teil der Arbeit wurde die Frage der luteotrophen Wirkung des Choriongonadotropins (HCG) untersucht und zwar mit der Fragestellung, ob eine direkte oder indirekte luteotrophe Wirkung des HCG vorliegt. Außerdem wurden Untersuchungen über den unklaren Wirkungsmechanismus beim Zustandekommen des luteotrophen Effektes des HCG durchgeführt.
Dabei wurde im Einzelnen festgestellt:

12. Pseudogravide weibliche Ratten zeigen nach operativer Entfernung der Hypophyse keine aktive Sekretion von Gelbkörperhormon, nachgewiesen an der negativen Reaktion des Deziduomtestes.

13. Eine Behandlung mit HCG hat keinen Einfluß auf die Funktionslosigkeit der Gelbkörper beim hypophysektomierten Tier.

14. Es besteht daher kein direkter luteotropher Effekt des HCG, wie festzustellen ist aus
    a) dem negativen Ausfall der Deziduomreaktion.
    b) dem Verhalten des Zellbildes aus dem Vaginalabstrich.

15. Bei nicht-hypophysektomierten, pseudograviden, weiblichen Ratten führt eine Behandlung mit HCG zu einer positiven Deziduomreaktion.

16. HCG scheint deshalb unter Zwischenschaltung der Hypophyse einen indirekten luteotrophen Effekt zu haben, kontrollierbar an:

    a) dem positiven Ausfall der Deciduomreaktion.

    b) an der diöstrischen Schleimreaktion im Zellbild des Vaginalabstriches.

Zur weiteren Sicherung der Ergebnisse 14. - 18. haben wir den luteotrophen Effekt des HCG und die Frage nach dem Wirkungsmechanismus dieser Vorgänge unter anderen methodischen Voraussetzungen untersucht. Bei Kaninchen, die mit gonadotropen Substanzen vorbehandelt waren, untersuchten wir die Progesteronaktivität des Blutes. Die chemische Aufarbeitung erfolgte nach der von Zander und Simmer angegebenen Methode zur Darstellung von Progesteron aus dem Blut.

Die biologischen Untersuchungen führten wir mit Hilfe des Hooker-Forbes-Testes durch, der durch ungewöhnliche Empfindlichkeit und hohe Spezifität ausgezeichnet ist.

17. Für den biologischen Nachweis von Progesteron durch den Hooker-Forbes-Test an Mäusen wurde eine eigene neue Operationsmethode angegeben, und die Modifikation der technischen Durchführung begründet.

18. Für den eigenen, rein gezüchteten Wistar-Stamm, wurde die untere Empfindlichkeitsgrenze auf Progesteron im Hooker-Forbes-Test bei einer Verdünnung von 0,0003 Gamma in einem Volumen von 0,0006 ccm Sesamöl festgestellt.

19. Durch induzierte "Ovulation" entstandene Gelbkörper beim Kaninchen zeigten keine positive Hooker-Forbes-Aktivität (Progesteronnachweis im biologischen Versuch).

20. Durch "künstliche Ovulation" hervorgerufene Gelbkörper scheinen demnach nicht funktionstüchtig zu sein. Sie sezernieren kein Progesteron.

21. Nach Stimulation mit HCG sezernieren diese Gelbkörper im Kaninchen Progesteron, kontrollierbar an dem positiven Ausfall der Hooker-Forbes-Reaktion am Mäuseuterus.

22. Gelbkörper im Kaninchen, die nach künstlich induzierter "Ovulation" entstanden sind, zeigen Funktionstüchtigkeit, wenn dem Tier luteotrophes Hormon zugeführt wird.

23. Es ist also das LTH der Hypophyse, das nach HCG-Einwirkung die Funktionstüchtigkeit des Gelbkörpers herbeiführt.

Den folgenden Untersuchungen lag ebenfalls die Frage nach dem Wirkungsmechanismus des luteotrophen Effektes des HCG zugrunde. Die bisherigen Ergebnisse sprechen für eine Stimulation der LTH-Produktion in der Adenohypophyse durch das HCG. Das durch die Anregung des HCG vermehrt gebildete LTH verursacht von seiner Seite aus den eigentlichen luteotrophen Effekt, den man bisher, in Unkenntnis der funktionellen Vorgänge, auf das HCG bezog.

In den folgenden Untersuchungen steht der mammotrope Faktor des LTH im Vordergrund. Unter Berücksichtigung der mammotropen bzw. lactogenen Eigenschaften konnte weiterer Einblick in grundsätzliche Fragen gewonnen werden.

24. Nicht gravide, weibliche Ratten mit intakten Ovarien und funktionstüchtiger Hypophyse reagierten auf Behandlung mit HCG mit einer kräftigen Proliferation des Drüsenparenchyms der Mammae.

25. Nicht gravide, weibliche Ratten mit intakten Ovarien, jedoch hypophysektomiert, zeigten auf eine Behandlung mit HCG keine auffallende Veränderung im histologischen Strukturbild des Brustdrüsenparenchyms.

26. Nicht gravide, weibliche Ratten, ovarektomiert und hypophysektomiert, zeigen nach Behandlung mit HCG keine Reaktion des Epithels der Brustdrüse.

27. Nicht gravide, weibliche ovarektomierte und hypophysektomierte Ratten zeigen nach Injektion von LTH-Substanz keine Reaktion des Drustdrüsenepithels.

28. Nicht gravide, weibliche ovarektomierte und hypophysektomierte Ratten reagieren auf Behandlung mit Ovarialhormonen kombiniert mit HCG nicht mit einer Reaktion des Epitheks der Brustdrüse.

29. Nicht gravide, weibliche ovarektomierte Ratten mit intakter Hypophyse reagieren auf Behandlung mit Ovarialhormonen kombiniert mit HCG mit einer deutlichen Proliferation des Brustdrüsenepithels.

30. Nicht gravide, weibliche Ratten die hypophysektomiert sind, reagieren auf eine Behandlung mit Ovarialhormonen kombiniert mit HCG und einer zusätzlichen Applikation von LTH mit einer auffallend starken Epithelproliferation der Brustdrüse. Das morphologische Bild entspricht hier dem Zustandsbild der beginnenden Lactationsumwandlung.

31. Die fehlende hypophysäre Funktion kann demnach nur durch LTH ersetzt werden. Aus den Untersuchungen 23. - 28. geht hervor, daß LTH am Aufbau der morphologischen Gewebsstrukturen und am funktionellen Verhalten der Brustdrüse entscheidend beteiligt ist, Bemerkenswert ist das Ergebnis, daß eine Wirkung des HCG nur beim Tier mit intakter Hypophyse oder beim hypophysektomierten nur nach Verabreichung von LTH festzustellen war.

32. Die indirekte luteotrophe Wirkung des HCG läßt sich auf folgendem Wege erklären. Eine direkte Einwirkung auf das Corp.lut. und das Brustdrüsenparenchym von Seiten des HCG liegt nachweislich nicht vor. Es stimuliert jedoch die Hypophyse zur vermehrten Bildung und Sekretion des luteotrophen Faktors. LTH, das zumindest bei der Ratte als luteotrophes Hormon anzuerkennen ist, fördert die Funktionstüchtigkeit des Gelbkörpers, regt die Synthese und Sekretion von Progesteron an und wirkt mammotrop.
HCG wirkt demnach allgemein nur indirekt luteotroph über die Hypophyse.

33. In einer zusammenfassenden Besprechung, insbesondere unter Berücksichtigung der eigenen Ergebnisse, werden die funktionellen Beziehungen zwischen Hypophyse und Ovar besprochen und ein nach eigener Überlegung modifiziertes Funktionsschema diskutiert. Die Bedeutung für die menschlichen Verhältnisse und die therapeutisch abzuleitenden Möglichkeiten werden abschließend erörtert.

Die grundsätzlichen Fragen, die im Mittelpunkt der Untersuchungen dieser Arbeit standen, waren:

1. Ist die Produktion des luteotrophen Hormons (LTH) auf die Hypophyse beschränkt, oder findet außerhalb eine extrahypophysäre Bildung von LTH statt?
2. Hat das Choriongonadotropin (HCG) einen direkten oder indirekten luteotrophen Effekt?

Wir haben das Problem unter verschiedenen methodischen Voraussetzungen geprüft. Es lag diesem Vorgehen die kritische Überlegung zugrunde, daß der Beweiswert steigt, wenn man bei Aussagen über biologische Versuchsergebnisse nicht auf die Auswertung nur einer Methode angewiesen ist, sondern mehrere Verfahren nebeneinander zur Verfügung stehen und sich das Urteil dementsprechend auf mehrere Ergebnisse stützt.

Die von verschiedenen Ansätzen ausgehenden Untersuchungen erlauben in ihren Ergebnissen jedoch übereinstimmend die folgenden Feststellungen:

1. Die Produktion von LTH findet in der Adenohypophyse statt und scheint auf diese beschränkt zu sein. Auch die Plazenta als hormonell-aktives Organ ist nicht imstande, selbst LTH zu bilden.
2. Choriongonadotropin (HCG) hat einen indirekten luteotrophen Effekt. Dieser kommt zustande unter

Zwischenschaltung der Hypophyse über die Anregung zu vermehrter LTH-Produktion.

Schrifttum

1.) Abderhalden, R.: Lehrbuch der Physiologie, die Hormone, Springer-Verlag 1952. - 2.) Achilles, W.E. u. Sturgis, S.H.: Endocrinology 49,1951,720. - 3.) Albert, A.: Recent Progress in Hormone Research, Acad.Press inc.Publ. New York 12,1956,227. - 4.) Allen, W.M.: Diskussionsbemerkung in Holmström und Jones: Amer.J. Obstetr.a.Gynec.Vol. 58,1949,308. - 5.) Ammon, R. und Dirschel, W.: Fermente, Hormone, Vitamine, Thieme-Verlag Stuttgart 1948. - 6.) d'Amour: Amer.J.Obstetr. 40,1940,958. - 7.) Ders.: J.Clin.Endocrin. 3,1943,41. - 8.) Ders. u. Funk, D. u. Liverman, H.: Amer.J.Obstetr. 37, 1939,940. - 9.) Ders. u. Woods, L.: J.Clin.Endocrin. 1,1941,433. - 10.) Anselmino, K.J. und Hoffmann, F.: Handbuch der experiment.Pharmakologie, Bd.IX, Springer-Verlag 1941. - 11.) Aschheim u. Zondeck, B.: Klin. Wschr. 6,1927,1322. - 12.) Assenmacher, J. und Benoit, J., zit.n.Bargmann,W.: Das Zwischenhirn-Hypophyse-System, Springer, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1954. - 13.) Astwood, E.B.: Endocrinology, 28,1941,309. - 14.) Ders. u. Fevold, H.L.: Amer.J.Physiol. 127,1939, 192. - 15.) Ders. u. R.O. Greep: Proc.Soc.exper.Biol. a. Med. 38,1938,713. - 16.) Ders.: Science 89,1939,31. - 17.) Atkinson, W.B. u. J.H. Leathem: Proc.Soc. exper.Biol.a.Med. 58,1945,283. - 18.) Averill, S.C.; E.W. Ray u. W.R. Lyons: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 75,1950, 3. - 19.) Baker, B.L. u. Everet, N.B.: Endocrinology, 41,1947,144. - 20.) Baratz, M.E.: Bull.Biol.et Med.exp.U.R.S.S. 6,1938,555. - 21.) Bargmann, W.: Das Zwischenhirn-Hypophysen-System, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1954. - 22.) Bargmann, W. und Scharer: Am.Scientist 39,1951,255. - 23.) Ders.: Geburtshilfe u. Frauenheilk. 17,1957,865. - 24.) Barnett, J.R. u. Greep, R.O.: Endocrinology, 49,1951,337. - 25.) Bates, W.R., E.L. Lahr u. O. Riddle: Am.J.Physiol. 111,1935,361. - 26.) Benedek, R.: Diss. Budapest 1942. - 27.) Benett, L.L.; R.E. Kreiss; Li, Ch.H. u. Evans: H.M.Amer.J.Physiol. 152,1948,210-215. - 28.) Benoit, J. u. Assenmacher, J.: Comp. rend.Soc.biol. Paris, 145,1951,1112. - 29.) Ders.: Arch. anat.mikrosk. Paris, 42,1953,334. - 30.) Benson, J.K. u. Folley, S.J.: Nature, London, 177,1956,700, zit.n.Ber. über die ges.Physiologie und exper.Pharmakologie, 187,1957,88. - 31.) Benz, F.: Helv.chim.Acta, 24,1941,197. - 32.) Bergmann, A.J.; Meites, J. u. Turner, C. W.: Endocrinology, 26,1940,716. - 33.) Bialet u. Lapida: Comp.rend.Soc.biol., Paris, 114,1933,383. - 34.) Ders.: Endocrinology, 3,1929,241. - 35.) Birnberg u. Mitarb.: Medizina Espannola, 1953,166. - 36.) Bischoff, H.W. u. Lyons, W.R.: Endocrinology, 25,1939,17. - 37.) Borth, H.W. u. Lyons, W.R.: Endocrinology, 25,1939,17, Vitamins u. Hormones, N.Y. 10,1952, 142. -

38.) B r a d b u r y, J.T.: Endocrinology, 41,1947,501-513 - 39.) D e r s. u. B r o w n, W.E. u. L.A. G r a y: Recent Progress in Hormone Research, Acad.Press Inc.Publ. N.Y.V. 151,1950. - 40.) B r i n c k, T.; J o h n s e n u. E i c k - N e s, K.: Endocrinology, 61,1957,676-683. - 41.) B r o w n, R.W., W o o d b u r y, V.M. u. S a y e, G.: Proc.Soc.exper.Biol.Med., 76,1951,639-642. - 42.) D e r s. u. V e n n i n g, E.M.: Am.J.Physiol., 123,1938,26. - 43.) D e r s. u. B r a d b u r y, J.T.: Am.J.Obstetr.a.Gynec. 53,1947,749-757. - 44.) D e r s., B r a d b u r y, J.T. u. M e t z g e r: Am.J.Obstetr., 41,1941,582. - 45.) D e r s., H e n r y, J.S. u. V e n n i n g, E.H.: Am.J.Obstetr. 38, 1935,297. - 46.) D e r s. u. V e n n i n g, E.H.: Lancet 1936,1507. - 47.) D e r s., B r a d b u r y, J.T. u. J u n g k, E.C.: Am.J.Obstetr. 65,1953,733. - 48.) B r u n e r, J.A.: J.clin.Endocrinology (Springfield) 11,1951,360. - 49.) B r y a n s, F.E.: Endocrinology, 48,1951,733. - 50.) B u c h h o l z, R.: Geburtshilfe und Frauenheilkunde, 17,1957,588. - 51.) B u d d e n b r o c k, W. von,: Vergleichende Physiologie, Bd.IV Hormone, Birkhäuser, Basel, 1950. - 52.) B u l l o u g h, W.S.: Nature (London) 149, 1942,271. - 53.) B u r t, A.S.: Cancer, 7,1954,1227. - 54.) D e r s. u. R.B. C o h e n: Lab.Invest. 2,1953,357. - 55.) D e r s. u. B.H. L a n d i n g u. S.C. S o m m e r s: Cancer, 14,1954,497. - 56.) D e r s., L. R e i n e r, R.B. C o h e n u. R.C. S n i f f e n: J.clin.Endocrinology, 14, 1954,719. - 57.) B u r t - R u s s f i e l d, A.S.: Cancer, 8,1955,523. - 58.) B u s t a m e n t e, M., S p a t z, H. u. W e i s s c h e d e l, E.: Dtsch.med.Wschr. 1942,289. - 59.) B u t t o n u. M i l l e r: Proc.Soc.exper.Biol.Med., N.Y. 34,1936,835. - 60.) D i e s.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 34,1936,835. - 61.) B u t t, W.R., M o r r i s, P., M o r r i s, C.J.O. u. W i l l i a m s, D.C.: Biochem.J., 49, 1951,434. - 62.) B ü t t n e r, W. u. T r a p p m a n n, R.: Arch.Gynäk., 170,1940,413. - 63.) B y r n e s, W.W. u. M e y e r, R.K.: Endocrinology (Springfield) 49,1951,449. - 64.) D i e s.: Endocrinology, 48,1951,133. - 65.) C a n i v e n c, R.: Arch.Nat. Strasbourg, 34,1952,105. - 66.) D e r s. u. M a y e r, G.: Compt.rend.soc.biol., 147, 1953,1067. - 67.) C h a n c e, M.R.A., R o w l a n d s, L.W. u. Y o u n g, F.G.: J.Endocrinology, 1.1938,239. - 68.) C h e n g, C.G., S a y e r s, G., L.S. G o o d m a n u. C.A. S w i n t i a r d: Amer.J.Physiol., 159,1949,420. - 69.) C h o w, B.F.: Ann.N.Y.Acad.Sci. 43,1943,426. - 70.) D e r s.: Endocrinology, 30,1942,657. - 71.) D e r s., R.O. G r e e p u. H.B. van D y k e: J.Endocrinology, 1,1939, 440. - 72.) C i b a, A.G.: Argentinisches Patent Nr.81468, 17. Juli 1951. - 73.) C l a e s s o n, L.D., D i c z f a l u s y, E., H i l l a r p, N., H ö g b e r g, B.: Acta physiol.scand. 16,1948,183. - 74.) C l a u b e r g u. B r e i p o h l: Arch.Gynäkol., 1934,158,567, Klin.Wschr. 1935,119. - 75.) D e r s. et P. F l o r e n t i n: Comp. rend.Assoc.Anat. Bordeaux 1929, Comp.rend.Soc.Biol. (Paris) 101,129,1093. - 76.) C o l l i p, J.B., Gland,Phys. a Ther. Chicago 1935,85. - 77.) C o l l i n, R.: C.r.Soc.biol. 91,1924,1334. -

78.) C o p p e d g e, R.L. u. S e g a l o f f: J.Clin.Endocrinol. 11,1951,465. - 79.) C o w i e, A.T. u. F o l l e y, S.J.: in Pincus "The Hormones" Vol. III, 1955,375, Acad. Press, Inc.Publ. New York. - 80.) C o r n e r, G.W.: Am. J.Physiol. 95,1930,43. - 81.) C r o o k e, A.C. u. B u t t, W.R.: Proc.Soc.Study of Fertility, 1953, Nr. V.81. - 82.) C u t u l y, E.: Endocrinology, 1,1938,239. - 83.) D e m p s e y, E.W. u. U o t i l a, C.: Endocrinology, 33,1943,384. - 84.) D e s c l i n, L.: Comp.rend.Biol. (Paris) 120,1935,527;131,1935,807;134,1940,267. - 85.) D e r s. u. G r e g o i r e, C.: Compt.rend.Soc.Biol., 121,1936,1366. - 86.) D e r s.: Ann. d'endocrinol. 11,1950, 656. - 87.) D e r s.: La Funktion luteale, Publikation des Colloques sur la Function luteale, Paris, 1954. - 88.) D e r s.: Ann.endocrinol., Paris, 10,1949,1. - 90.) D e r s.: Compt.rend.soc.biol. 142,1948,1436. - 91.) D e r s.: Compt.rend.soc.biol. 143,1949,1154. - 92.) D i b b e l t, L. u. B u c h h o l z, R.: Geburtshilfe und Frauenheilk. 1953,13,604. - 93.) D i e k e n s, F.: Biochem.J. 24,1930,1507. - 94.) D i c z f a l u s y, E.: Acta endocrin. (Kh'vn) Suppl.XII, 1953. - 95.) D e r s. u. H ö g b e r g, B. u. W e s t m a n, A.: Acta Endocrin. Kh'vn, 5,1950,226. - 96.) D e r s., H o l m g r e n, H.J. u. W e s t m a n, A.: Acta Endocrin. 5,1950,43. - 97.) D e r s. u. H.O. H e i n r i c h s: Arch.Gynäk. 187,1956,556-594. - 98.) D o i s y, C u r t i s u. C o l l i e r: Proc.Soc.exper.Biol.Med. N.Y. 28,1931,885. - 99.) D r e s c h e r, J.: Acta Endocrinol. Copenh. 15,1954,325. - 100.) D e r s.: Vortrag dtsch.Ges.f.Endokrinol. III. Sympos. Bonn 1955. - 101.) D e r s. u. H.H. S t a n g e: Acta endocrinol. (Copenh) 19,1955,289. - 102.) D r e s e l, I.: Science, 82,135,173. - 103.) D u b r e i l, G.: C.r.Assoc.Anat. 1953, Bd.77, 1. - 104.) D y r o f f, R.: persönliche Mitteilung. - 105.) D e r s.: persönliche Mitteilung. - 106.) E d i n g e r, L.: Arch.mikrosk.Anat. 78,1911,496. - 107.) E l e r t, R.: Biol. und Pathologie des Weibes, Seitz-Amreich, Bd.I. 1953,488, Urban u, Schwarzenberg. - 108.) E r n o u l d, H.J., F a l a r d, A., H e n s g h e m, C. u. D a m i a n - G i l l e t: Sem.Hop. Paris, 1951,2604. - 109.) E v a n s, H.M. u. M.E. S i m p s o n: zit. nach G.J. Hall, J. Clin.Endocrinology, 2,1942,296. - 110.) D i e s. u. P e n c h a r z, R.J.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 32,1935, 1048. - 111.) E v a n s, H.M. u. S i m p s o n, M.E.: The Hormones, Bd.II. G. P i n c u s, Acad.Press.inc.Publ. N.Y. 1950,351. - 112.) D i e s.: The Hormones, Bd.II. Acad. Press.Inc.Publ. N.Y. 1950. - 113.) E v a n s, H.M., K o r p i, K., S i m p s o n, M.E., P e n c h a r z, R.J. u. W o n d e r, D.H.: Univ.Calif.Pub.Anat. 1,1936,255. - 114.) E v a n s, H.M., S i m p s o n, M.E., L y o n s, W.R. u. T u r p e i n e n, K.: Endocrinology (Springfield) 28, 1941,933. - 115.) E v a n s, H.M., S i m p s o n, M.E. u. L y o n s, W.R.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 46,1941,586. - 116.) E v a n s, H.M. u. S i m p s o n, M.E.: Proc.Soc. exper.Biol.Med. 26,1929,597. - 117.) E v e r e t t, J.W.: Endocrinology, Vol. 58,1956,786. -

118.) E v e r e t t, J.W. u. S a w y e r, C.H. u. M a r k e e, J.E.: Endocrinology, (Springfield) 44,1949,234. - 119.) E v e r e t t, N.B.: Endocrinology, 43,1948,389. - 120.) D e r s. u. B.C. B a k e r: Endocrinology (Springfield) 37,1945,83. - 121.) D e r s.: Endocrinology, 35, 1944,507. - 122.) D e r s.: Endocrinology, 47,1950,198. - 123.) D e r s. u. S a w y e r, Ch.H.: Endocrinology, 41, 1947,364. - 124.) E y d a m u. R e i h e r: Ärztl.Forsch. X, 1956,47. - 125.) F a u v e t, E.: Arch.Gynäk. 178,1949, 104. - 126.) F e r g u s o n, R.S.: Amer.J.Cancer. 18, 1933,269. - 127.) F e v o l d, H.L. u. H i s a w, F.L.: Amer.J.Physiol. 109,1934,655. - 128.) D e r s.: Anat.Rec. (Suppl.2.) 73,1939,19. - 129.) D e r s., L e e, M. u. H i s a w, F.L. u. C o h n, E.: Endocrinology, 26,1940,999. - 130.) D e r s.: Endocrinology, 24,1939,435. - 131.) D e r s., H i s a w, F.L. u. L e o n h a r d, S.L.: Amer.J.Physiol. 97.1937,291. - 132.) F e y r t e r, F.: Klin.Wschr. 28,1950,533. - 133.) F i n e r t y, J.C. u. M e y e r, R.K.: Endocrinology, 46,1950,494. - 134.) D i e s.: Anatomical Record, 106,1950,195. - 135.) F i s c h e r u. E n g e l: Rev.franc.endocrin. 14, 1936,203. - 136.) F l u h m a n n, C.F. u. G.L. L a q u e u r: Endocrinology, 31,1942,375. - 137.) F o l l e y, S.J. u. M a l p r e s s, F.H.: "The Hormones", Bd.I. Acad.Press.Inc.Publ. N.Y. 1948. - 138.) D e r s.: Ann. Rept.Progress Chem. London, 47,1951,360. - 139.) F o r t i e r, C.: Endocrinology, 49,1951,782. - 140.) F r a e n k e l, C.H., S i m p s o n, M.E., L i, Ch.H. u. E v a n s, H.M.: An.Facultad Med. Montevideo, 25,1940,627. - 141.) D i e s.: An.Facultad Med. Montevideo, 25,1940,617. - 142.) D i e s.: J.Biol.Chem. 142,1942,119. - 143.) F r a n c k, S.: C.r.Soc.Biol. Paris, 119,1935,416. - 144.) F r a s e r, J.:Edinbourgh, Med.J. 136,1921. - 145.) F r e e d: Endocrinology, 20,1936,863. - 146.) F r e u d, J. u. D i n g e m a n s e, E.: Acta brv. neerl. 11,1941,37. - 147.) F r i e d, P.H. u. R a k o f f, A.E.: J.Clin.Endocrin. a Metabol., 12,1952,321. - 148.) F r i e d g o o d, H.B. u. D a w s o n, A.B.: Endocrinology, 22,1938,674. - 149.) D i e s.: Endocrinology, 26,1940,1022. - 150.) D i e s.: Endocrinology, 30,1942, 252. - 151.) F u n k e, R.: Untersuchungen über die Rückwirkungen des Corp.lut. Hormones auf den HVL. Thesis, S.16, Kalbfleich, Gelnhausen, 1937. - 152.) G a a r e n s t r o o m, H.J. u. de J o n g h, S.E.: a) Proc.nederl. Acad.Wetensch. 52,1943,116, b) Nederl.Tijdschr.Geneesk. 90, 1946,673, c) Acta endocrinol. 1,1948,97. - 153.) D e r s.: Acta endocrinol. (Khvn) 1,1948,104. - 154.) G a a r e n s t r o o m u. de J o n g h: Acta neerl.Physiol. 1946,14, 46. - 155.) G e s c h i c k t e r, Ch.F. u. L e w i, D.: Arch.Surg. 32,1936,598. - 156.) G i t s c h, E. u. T u l z e r, H.: Z.Geburtsh. 136,149,1952. - 157.) G i e t s c h, E.: Wiener Klin.Wschr. 70,1958,544. - 158.) G i u f f r i d a, F.: Fol.ginecol. (Genova) 34,1937,681. - 159.) G o m e z, E.T., T u r n e r, O.W. u. R e e c e, P.R.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 36,1937,286. -

160.) G o m o r i, G.: Am.J.of Pathol. 17/1, 1941,395. -
161.) G o m o r i, G.: Am.J.of. clin.Path. 20,1950,665. -
162.) G r a y, L.A.: zit.n. Holmström u.Jones, Diskussionsbemerkung. Am.J.Obsteter. a. Gynec. 58,1949,308. -
163.) G r e e p, R.O.: Endocrinology, 23,1938,154. -
164.) D e r s.: Endocrinology, (Springfield) 30,1942,635. -
165.) D e r s., van D y k e, H.B. u. C h o w, B.F.: Proc.Soc. exper.Biol.Med. 46,1941,644. - 166.) D i e s.: J.Biol.Chem. 133,1940,289. - 167.) D e r s. u, J o n e s, I.C.: Recent Progress in Hormone Research, Acad.Press.Inc.Publ. N.Y. 1950, 117. - 168.) H a d f i e l d, G.: Lancet, 1,1957,1058. -
169.) H a l l, G.J.: J.Clin.Endocrinology, 2,1942,296. -
170.) H a m b u r g e r, C. u. S p e c h l e r: Ciba Faundation Colloquia Endocrinology, 4,1952,195. - 171.) H a l m i, N.S.: Endocrinology, 50,1952,811. - 172.) H a n s t r ö m, B.: Nature (London) 171,1953,72. -
173.) H a r r i s, G.W.: Arch.Gynäk. 183,1953,35. -
174.) D e r s.: Neural. Control of the Pituitary, Gland, London, 1955. - 175.) D e r s.: J.Physiol. 111,1950,347. -
176.) D e r s. u. D. J a k o b s o n: Proc.Soc. London B 139, 1952,263. - 177.) D e r s. u. E a k i n, R.M.: Anat.Record 100,1948,40. - 178.) H a r r i s, G.W.: Physiol.Rev. 28, 1948,139. - 179.) H a s k i n s, A.L.: Proc.Soc.exper. Biol.Med. N.Y. 73,1950,439. - 180.) H a u p t s t e i n: Endocrinology (Springfield) 8,1931,179. - 181.) H e l l e r, C.G. u. N e l s o n, W.O.: Recent Progress in Hormone Research Bd.III. Acad.Press.Inc.Publ. N.Y. 1948. -
182.) H e r o l d, L. u. E f f k e m a n n: Klin.Wschr. 18/1, 1939,455. - 183.) H e r t l, M.: Morph.J. Leipzig, 92,1953, 75. - 184.) H i l d, W. u. T e t l e r: Z.exper.Med. 120, 1953,236. - 185.) H i l l a r p, N.A.: Acta endocr. (Copenh.) 2,1949,11. - 186.) H i l l, R.T.: Endocrinology, 42,1948,339. - 187.) H i n s e y, J.C. u. M a r k e e, J.E.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 30,1932,136. - 188.) D e r s.: Cold Spring Harbour Symposis on quant.Biol. 5,1937,269. -
189.) D e r s. u. M a r k e e: Am.J.Physiol. 106,1933,48. -
190.) H i s a w, F.L.: Amer.J.Anat. 61,1937,483. -
191.) D e r s., F e v o l d, H.L., F o r s t e r, N.A. u. H e l l b a u m, A.A.: Anat.Rec. 60, suppl. 53.1934. -
192.) D e r s.: Yale J.Biol. and Med. 17,1944,119. -
193.) H i s a w a, A s t w o o d: Annual Rev.Physiol. (Stanford Univ.) 1942, Bd.4, 503. - 194.) H o f f m a n n, R. u. U h d e, G.: Zbl.Gynäk. 1955, 929. - 195.) D e r s.: Zbl.Gynäk. 61,1937,35. - 196.) H o h l w e g, W.: in Seitz-Amreich, Biologie u. Pathologie des Weibes, 2.Aufl. Bd.1, 1953,543, Urban-Schwarzenberg, Berlin-Innsbruck-München-Wien. - 197.) D e r s.: Klin.Wschr. 13,1934,92. -
198.) D e r s. u. D o r n: Wien Arch.inn.Med. 21,1931,337. -
199.) D e r s. u. J u n k m a n n, K.: Klin.Wschr. 1932,321. -
200.) D e r s. u. D o r n: Wien Arch.inn.Med. 21,1932,227. -
201.) D e r s.: Klin.Wschr. 92,1934; 1027,1935; 1832,1936; 196,1937. - 202.) H o h l w e g, W.: Dtsch.Gesundh.Wes. 11,275,1956. - 203.) H ö h n, E.O.: J.of Endocrinology, 16,227-230,1957. - 204.) H o l m s t r ö m, E.G. u. J o n e s: Am.J.Obstetr.a.Gynec. 58,1949,308. -

205.) H o o k e r, C.W. u. F.R. F o r b e s, Endocrinology, 41,1949,61. - 206.) D i e s.: Endocrinology, 45,1949,72. - 207.) H o o k e r, C.W.: Anat.Rec. 93,1945,333. - 208.) H o o k e r, C.W. u. F.R. F o r b e s: Endocrinology, 41,1947,158. - 209.) H u f, E.: Klin.Wschr. 1940,625; 1941,729. - 210.) H u n t, Th.E.: Anat.Rec. 97,1947,127. - 211.) H u r s t, V. u. C.W. T u r n e r: Endocrinology, 42, 1942,334. - 212.) I s r a e l u. S c h u e l l e r: Fertility u. Sterility, 1,1950,53. - 213.) J o h n s o n, S.G.: Acta endocrinology (Copenh.) 20,1955,105. - 214.) K a t z m a n n, P.A.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 29, 1932,700. - 215.) K a u f m a n n, Fr.: zit.n. Wagner. (wie E 8). - 216.) D e r s.: Arch.Gynäk. 183,1953,264. - 217.) K i r k m a n n, H.: Amer.J.Anat. 61,1937,253. - 218.) K l a f t e n, E.M.: Z.Geburtshilfe, 115,1937,64. - 220.) K l e b a n o w: Zbl.Gynäk. 1950,977. - 221.) K l e i n, M. u. M a y e r, G.: Colloqu.intern.centre. nat.recherche sci Paris, 32,1950,73. - 222.) K l i n e - f e l d e r, H.F., A l b r i g h t, F. and G r i s w o l d, G.C.: J.clin.Endocrin. Springfield 1943,3,529. - 223.) K l u n g s ö y e r, L. u. K.F. S t ö a: Acta endocrin. (Copenh.) 18,1955,268. - 224.) K r a c h t, J.: in Nowakowski, H. IV. Symposion,d.deutschen Ges.f.Endocrin. Springer-Verlag 1957,1-18. - 225.) K u d e u. D'A m o u r: Amer.J.Physiol. 96,1931,677. - 226.) K u p p e r m a n n, H.S., F r i e d, P. u. H a i r, L.Q.: Amer.J.Obstetr.Gynaec. 48,1944,228. - 227.) van der K u y, van S o e s t, E.M. u. P r o o g e - B e l l e, A.G.C.: Proc.Kon.Ned.Acad.v. Wetensch.Ser.C. 56,1953,62-65. - 228.) K y l i n, L.H.:u. Klin.Wschr. I. 1937,447. - 229.) L a h r, E.L. u. R i d d l e, O.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. N.Y. 34,1936,880. - 230.) D e r s., B a t e s, R.W. u. R i d d l e, O.: Endocrinologx, 32,1943,251. - 231.) L a h r, J.H.F.: Acta brv. Neerl. 59,1940,63. - 232.) L a n e, J.: Physiol. 110,1935, 681. - 233.) D e r s.: Anat.Rec. 61,1935,141. - 234.) L e b l o n d, C.P. u. A l l e n, E.: Endocrinology, 21,1937,1190. - 235.) D e r s. u. N o b l e, K.G.: Proc. Soc.exper.Biol.Med. 36,1937,517. - 236.) L e g r a n d, J.: Bull.Soc.belge Gynec. 14,1938,11. - 237.) L e o n h a r d, S.L.: Endocrinology, 32,1943,229. - 238.) L e s s m a n n, Fr.: Zschr.Geburtsh. 119,1939,271. - 239.) L i a r d, J.: Compt.rend.Soc.biol. (Paris) 126,1937,512. - 240.) L i, Ch.H., L y o n s, W.R. u. E v a n s, H.M.: J.gen.Physiol. 23,1940,433. - 241.) D i e s.: J.Am.Chem.Soc. 62,1940,2925.- 242.) D i e s.: J.gen.Physiol. 24,1941,303. - 243.) D i e s.: J.biol.Chem. 140,1941,43. - 244.) D i e s.: J.biol.Chem. 146,1942,627. - 245.) L i, Ch.H.: J.Biol.Chem. 148,1943,289. - 246.) L i, Ch.H., L y o n s, W.R. u. E v a n s, H.M.: J.biol.Chem. 136,1940,709. - 247.) D i e s.: J.biol.Chem. 139,1941,43. - 248.) L i, Ch. H.: Vitamins and Hormones, 7,1949,223. - 249.) D e r s.: Vitamins and Hormones, Bd.VII. Acad.Press.Inc.Publ. N.Y. 1949. - 250.) D e r s.: Enzyklope d. Chem.Tech., 7,1951, 481. - 251.) D e r s. u. E v a n s, H.M.: The Hormones, Bd.I. Acad.Press.Inc.Publ. N.Y. 1948. -

252.) D e r s.: J.Amer.Chem.Soc. 72,1950,2815. -
253.) D e r s.: Federation Proc. 8,1949,218. -
254.) D e r s.: J.Am.Chem.Soc. 72,1950,2815. -
255.) D e r s. u. K.O. P e d e r s e n: J.gen.Physiol. 35, 1952,629. - 256.) D e r s. u. H a r r i s, J.I.: Ann.Rev. Biochem. 21,1952,603. - 257.) D e r s., S i m p s o n, M.E. u. E v a n s, H.M.: Endocrinology (Springfield) 27, 1940,803. - 258.) D e r s., S i m p s o n, M.E. u. E v a n s, H.M.: Science. 109,1949,445. - 259.) D i e s.: J.Am.chem.Soc. 64,1942,367. - 260.) L o e b, L.: Zbl.allg. Pathol.pathol.Anatom. 18,1907,563. - 261.) L u n e n - f e l d, B., E. R a b a n, A. H a r e l l, S t e i n b e r g u. A. S z e j n b e r g: Acta endocrinol. 24,1957,113-118. - 262.) Lyons, W.R., M.S. S i m p s o n u. H.M. E v a n s: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 52,1943, 143. - 263.) D e r s. u. C a t c h p o l e, H.R.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 31,1933, 299. - 264.) D e r s., J o h n s o n, R.F., C o l e, R.D. u. L i, Ch.H.: Intern.Symposion, New York Mc Graw Hill p. 461,1955. - 265.) L y o n s, R.A. u. P a g e, E.: Proc.Soc. exper.Biol.Med. 32,1936,1049. - 266.) L y o n s, R.A. u. W.M. A l l e n: Anat.Rec. 86,1943,417. - 267.) D e r s.: Cold Spring Harbour, Symposion on quant.Biol. 37,1937,207. - 268.) D e r s.: Cold Spring Harbour, Symposion on quant. Biol. 5,1937,198. - 269.) D e r s.: Proc.Soc.exper.Biol. Med. 35,1937,645. - 270.) M a h n e r t, A.: Zbl.Gyn. 1928,1754. - 271.) D e r s.: Zbl.Gyn. 1930,2883. - 272.) M a r d o n e s, E., I g l e s i a s, R. u. L i p - s c h ü t z, A.: Endocrinology, 58,1956,212-219. - 273.) M a r t i n: "Essays in Biology" Univ.Calif.Press. 1943,389. - 274.) D e r s.: Compt.rend.Soc.Biol. (Paris) 123,1936,702. - 275.) M a r t i n o w i t z, P.N.: Nature, N.Y. 165,1950,33. - 276.) M a y e r, G. u. C a n i v e n c, R.R.: Compt.rend.soc.biol. 144,1950,410. - 277.) D i e s.: Compt.rend.assoc.anat. 39e reunion 1952,9. - 278.) D i e s.: Compt.rend. de la Sociste des Biologie. Compt.rend. de la Societe de Biologie, 145,1951,100. - 279,) M a y e r, G.: Arch.sci.physiol. 5,1951,247. - 280.) M a y e r, G. u. C a n i v e n c, R.: Compt.rend.soc. biol. 145,1951,100. - 281.) Mc M a n n s, J.F.A.: Nature, 158,1946,202. - 282.) Mc. S h a n, W.H. u. M e y e r, R.K.: J.biol.Chem. 126,1938,361. - 283.) D i e s.: J.biol.Chem. 135,1940,473. - 284.) D i e s.: J.biol.Chem. 151,1943,259. - 285.) Mc S h a n, W.H. u. T u r n e r, C.W.: Proc.Soc.exper. Biol.Med. 32,1934,35,1655. - 286.) Mc S h a n, W.H. u. F r e n c h, H.E.J.: J.biol.Chem. 117,1937,111. - 287.) M e i t e s, J. u. T u r n e r, C.W.: Endocrinology, 30,1944,711. - 288.) D i e s.: Endocrinology, 30,1942,719. - 289.) D i e s.: Endocrinology, 30,1942,726. - 290.) M e t z n a l s, J.: I. Symposion d.dtsch.Ges.für Endokrinologie, 65,1953. - 291.) M e y e r, W.: Dtsch. Arch.klin.Med. 182,1938,351. - 292.) M i n z u n o, H., I i d a, H. u. N a i t o, M.: Endocrinol. Japon. 2,1955, 163-169. - 293.) M i n z u n o, H. u. M. N a i t o: Endo- crinol. Japon. 3,1956,227-230. - 294.) M o o r e, W.W. u. N a l b a n d o v, A.V.: Endocrinol. (Oxfort) 13,1955,18. -

295.) M o o r e, W.W. u. P r i c e: Amer.J.Physiol. 99,1931, 197. - 296.) M o r r i s, C.J.O.: Brit.Med.Bull. 11,1955, 101. - 297.) M ü h l b o c k, O. u. L.M. B o o t: in Nowakowski H. IV. Symposion d.dtsch.Ges.f.Endokrinologie, Berlin 1956, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1957,152. - 298.) D e r s.: Acta Endocrinol. K'hvn. 12,1953,47. - 299.) M ü l l e r, C. u. H. C o t t i e r: Gynaecologica, 146,1958,93. - 300.) N a t h a n s o n, J.T. u. F e v o l d, H.L.: Endocrinology, 22,1938,86. - 301.) N a y e r, G.: Arch.Sci.Physiol. Paris, 5,1951,247. - 302.) N e l s o n, W.O.: J.clin.Endocrinology, 6,1946,465. - 303.) N o b e l, R.L.: J.Endocrinol. 1,1939,100. - 304.) N o w a k o w s k i, H.: Verhandlg.d.dtsch.Ges.inn.Med. 61,1955. - 305.) O b e r, K.G., K l e i n, I. u. M. W e b e r: Arch. Gyn. 184,1953,550. - 306.) D e r s., W i j n a n a, M. u. de J o n g h, S.E.: Acta Endocrinol. K'hvn. 8,1951,251. - 307.) P a t t e l, V e n n i n g u. B r o w n: Endocrinol. 27,1940,721. - 308.) P e a r s e, A.E.G.: J.of Path. 64, 1952,811. - 309.) P e c k h a m, B.M. u. G r e e n e, R.R.: Endocrinol. 41,1947,273. - 310.) D i e s.: Endocrinology, 40,1947,277. - 311.) P e u c h a r z: Science 1940,91, 554. - 312.) P e t e r s e n, W.E.: Rec.Progress in Hormone Research.Acad.Press.Inc.Publ. N.Y. 1948. - 313.) P f e i f f e r: Annual Rev.Physiol (Stanford Univ.) 1943, Bd.5, 413. - 314.) P h i l i p p, E.: in Seitz-Amreich, Biologie und Pathologie des Weibes, Bd.I. 1953,495, Urban u. Schwarzenberger. - 315.) P l a t e, W.P.: Gynäkologia, Basel, 132,1951,329. - 316.) P o p a, G. u. F i e l d i n g: J. of. Anat. 65,1931,88. - 317.) P o r t e r, J.C. u. J.C. J o n e s: Endocrinology, 58,1956,62. - 318.) R a b a l d, E. u. V o s s, H.E.: Zschr.physiol.Chem. 261,1939,71. - 319.) R a k o f f, A.E.: Rec.Progress in Hormone Research. Bd.V. Acad.Press.Inc.Publ. N.Y. 1950. - 320.) R a y, E.W., S.C. A v e r i l l, W.R. L y o n s u. R.E. J o h n s o n: Endocrinology, 56,1955,359. - 321.) R e e c e, R.P. u. T u r n e r: Proc.Soc.exper.biol. 34,1936,402. - 322.) R e e c e, R.P. u. T u r n e r, O,W.: Res.Bull.Univ.Missouri, 1937,266,5. - 323.) D i e s.: Proc.Soc.exper.biol.Med. 36,1937,283. - 324.) D e r s. u. L e o n h a r d, S.L.: Endocrinology 29,1941,297. - 325.) R e i h e r, K.H.: Diss. Erlangen 1950. - 326.) D e r s.: Ztbl.Gyn. 75,1953,738-745. - 327.) D e r s. u. N i e d e r b ä u m e r: in Vorbereitung. - 328.) D e r s. u. B a e r: in Vorbereitung. - 329.) R i d d l e, O.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 32,1933,610. - 330.) D e r s., B a t e s, R.W. u. D y k s h o r n, S.W.: Proc.Soc.exper. Biol!Med. 29,1932,1211. - 331.) D i e s.: Am.J.Physiol. 105,1932,191. - 332.) D e r s. u. B r a u c h e r, zit.n. Voss, H.E.: Arzneimittelforsch. 4,1954,467-477. - 333.) R o b s o n, J.M.: Quart.J.exper.Physiol. 24,1936, 337. - J.Physiol. 90,1937,435. - 334.) R o b s o n, J.M.: J.Physiol. 90,1937,125. - 335.) D e r s.: J.Physiol. 90.145,1937. - 336.) D e r s.: J.Physiol. 90,1937,455. - 337.) R o m e i s, B.: Handbuch der mikroskopischen Anatomie, VI/3, Springer-Verlag 1940. -

338.) R o m e i s, B.: Am.J.Physiol. 180,1955,47. -
339.) R o t h s c h i l d, J. u. R.K. M e y e r.: Physiol. Zoll. 15,1942,216. - 340.) R u i z - G i j o n: zit.n. Voss, H.E. Arzneimittelf. 4,1954,467-477. -
341.) R y d b e r g, E.: The Journal of the Amer.Med.Association, 121,1943,1117. - 342.) D e r s.: Klin.Fortschr. Gynäkol. 1954,363. - 343.) S a i n t - R e m y, G.: C.r. Acad.Sci. Paris 1892, Nr.13; Arch. de Biol. 12,1892,425. -
344.) S a i n t - R e m y: zit. n. Wagner, H. (E 23). -
345.) S a l h i m a k, H.A.: J.clin.Endocrinol. Springfield, 12,1952,310. - 346.) D e r s., E.G. H o l m s t r ö m u. M.X. Z a r r o w: J.Clin.Endocrinol. a Metabol. XVII 1957, 667-672. - 347.) S a w y e r, Ch.H., M e r k e e, J.E. u. E v e r e t t, J.W.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 71,1949,670. -
348.) D e r s.: Anat.Rec.Suppl. 64,1,96,1935; Z. Morph. und Physiol. 60,1936,127. - 349.) S c h i e b l e r, Th.H.: Act.anat. 15,1952,393. - 350.) S c h o o l e y, J.P. and R i d d l e: Am.J.Anat. 62,1938,313. - 351.) S a y e r s, G. and M.A. S a y e r s: Rec.Progr.in Horm.Res. 2,81,1948. -
352.) S a y e r s, G.: Physiol.Rev. 30,241,1950. -
353.) S e g a l o r f, A.W., H. S t e r n b e r g, u. C.J. G a s k i l l: J.clin.Endocrinol. 11,1951,936. -
354.) D i e s.: Fed.Proc. 8,1949,368. - 355.) D i e s.: J.clin.Endocrinol. 11,1951,936. - 356.) S e g a l o f f, A., G o r d o n, D., C a r a b a s i, R.A., H o r w i t t, B.N., S c h l o s s e r, J.V. u. M u r i s o n, P.J.: Cancer, 7,1954,758. - 357.) S e l y e, H. u. Mc K e o w n: Proc. Roy.Soc. London. Ser. B. 119,1935,1. - 358.) S e l y e, H., C o l l i p, J.B. u. T h o m s e n, D.L.: Proc.Soc.exper. Biol.Med. 32,1935,1377. - 359.) S e l y e, H. u. C o l l i p, J.B.: Endocrinology, 20,1936,667. -
360.) S e l y e, H.: "Textbook of Endocrinology" Acta Endocrinol.Inc.Montreal,Canada 1949. - 360a.) S e v e r i n g h a u s, A.E.: PhysiolRev. 17,1937,556. -
361.) S h e l e s n i a k, M.C.: Am.J.Physiol 180,1955,47. -
362.) D e r s.: Am.J.Physiol. 179,1954a,301. -
363.) D e r s.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 87,1954b,377. -
364.) D e r s.: Acta endocrinol. 23,1956b,151. -
365.) D e r s.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 94,1957a,457. -
366.) D e r s.: Endocrinology, 60,1957b,302. -
367.) D e r s.: J. Endocrinology, 14,1956a,37. -
368.) D e r s.: Acta Endocrinologica, 27,1958,99-109. -
369.) S h e d l o w s k i, T., R o t h e n, A., C a r a b a s i, R.A., H o r w i t t, B.N., S c h l o s s e r, J.V. u. M u r i s o n: Science, 92,1940,178. - 370.) S i e g m u n d: Münch.med.Wschr. 1929,9. - 371.) S i l v a M o r e n o, V., H. C r o x a t t o, N.A l i s t o u, O. A m p u e r r o: Endocrinology, 57,1955,658. -
372.) S i m p s o n, E v a n s, F r a e n k e l, C o n r a d u. L i: Endocrinology, 1941,28,37. -
373.) S m i t h, Th.C.: Endocrinology, 57,1955,33-34. -
374.) D e r s.: Proc.Staff.Meet.Mayo Clin. 31,1956,309. -
375.) S p a t z, H.: Act.neuroveg. 3,1951,5. -
376.) S p a t z, H.: Symposion d.detsch.Ges.f.Endokrinologie, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1955,1-45, H. Nowakowski. -

377.) S p e n c e r, C.S.: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 28, 1931,500. - 378.) D e r s., d'A m o u r u. G u s t a v - s o n: Endocrinology, (Springfield) 16,1932,647. - 379.) S y d n e r, K.L.: Endocrinology, 36,1945,88. - 380.) S z a r k a, A.: Tagg.Ungar.Physiol.Ges. 1936, ref. in Ber.ges.Physiol.u.exper.Phar. 44,667. - 381.) S c h n e i d e r, W.G. u. H. F r a h m: IV. Symposion d.dtsch.Ges.f.Endokrinologie, 1956, H. Nowakowski, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg. - 382.) S c h o o l e y, J.P. u. P. R i d d l e: Amer.J.Anat. 62,1938,313. - 383.) S c h u l z e, H.A.: Z.mikrosk.anat. Forsch. Leipzig, 61,1955,420. - 384.) S t e e l m a n n, S.L., W.A. L a m o n t u. B.J. B a l t e s: J.of Endocrin. 56,1953,604. - 385.) S t e i n a c h: wie E 8. - 386.) S t e w a r t, F.W.: Arch.de Morph. 7,1922. - 387.) S t r i c k e r, P. u. G r u e t e r, F.: Compt.rend. Soc.Biol. Paris, 99,1928,1978. - 388.) D i e s.: Presse medicale, 37,1929,1268. - 389.) T e e l: zit.n. Proc.Soc. exper.Biol.Med. 46,1941,586. - 390.) T e s a u r o, G.: Pediatr.Riv. 44,1936,665. - 391.) T i e t z e, K.: Zbl. Gynäk. 1948,377. - 392.) T o b i n, C.E.: Endocrinology, 31,1942,197. - 393.) T r i s t r a m, G.R.: "Advances in Protein Chemistry", Bd.V. 1949. - 394.) U f e r, J.: Geburtshilfe und Frauenheilkunde, 18,1958,644. - 395.) U o t i l a, U.U.: Res.Publ.Ass.nerv.ment.Dis. 20, 1940,580. - 396.) D e r s.: Endocrinology, 26,1940,123. - 397.) van D y k e, H.B.: Univ. Chikago Press. I, 1936; II. 1939. - 398.) V e l a r d o, J.T.: Amer.J.Physiol. 190, 1957,408-412. - 399.) V i l l a v e r d e, M.M.: Med.Rec. 163,1950,84-92.; zit.n.Exc.med. III, 5,1951,69. - 400.) V i n c k e, E.: "Die Gonadotropine", Springer-Verlag 1955. - 401.) V o g t, M.: Arch.exper.Path. 162,1931,197. - 402.) V o s s, H.E.: Zschr.f.physiol.Chemie, 261,1939,71-81. 403.) D e r s.: Erg.Physiol. 44,1944,96-229. - 404.) D e r s.: Arzneimittelforschung, 4,1954,467-477. - 405.) D e r s.: Dtsch.med.Wschr. 83,1958,290. - 406.) W a g e n e r, G. van, u. G a r d n e r, W.U.: Endocrinology, 46,1950,265. - 407.) W a g n e r, H.: Zschr. Geburtsh.u.Gynäk. 150,1958,277. - 408.) W a l l e n - L a w r e n c e, Z.: J.Pharmacol. 51,1934,263. - 409.) von W a t t n w y l, H.: Schweiz.med.Wschr. 1941,1331.- 410.) W e i s s c h e d e l: zit.n.Dtsch.Z.Chir. 259,1944, 223-234. - 411.) W e s t m a n, A. u. J a k o b s o n, D.: Acta Obstetr.Scand. (Stockh.) 17,1937,235. - 412.) W e s t m a n n, A. u. J a k o b s o n: Acta obstetr. gynäk.scand. 18,1938,99. - 413.) W e s t m a n n, A. u. M.: Mschr.Geburtsh. 116,1943,225. - 414.) W e s t m a n: wie E 8. - 415.) D e r s.: Arch.Gynäk. 183,1953,131. - 416.) D e r s. u. J a k o b s o n, D.: Acta obstetr.gynaec. Scand. 17,1937,328. - 417.) D e r s. in Nowakowski, I. Symposion d.dtsch.Ges.f.Endokrinologie, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1955. - 418.) W e r t h, G.: Arzneimittelforschung, 5,1955,409. - 419.) W h i t e, A.: Ann.Acad.Sci. N.Y. 43,1943,341. - 420.) D e r s., B o s - n e s, R.W. u. L o n g, C.N.H.: J.biol.Chem. 143,1942,447. -

421.) W h i t e, A., C a t p o l e, H.R. u. L o n g, C.N.H.: Science, 86,1937,82. - 422.) W h i t e, A.: Vitamines and Hormones, Bd.VII. Acad.Press.Inc.Publ. N.Y. 1949. - 423.) W i e g a n d, M.: Zbl.Gyn. 61,1937,1887. - 424.) D e r s.: Arch.Gynäk. 165,1937,149. - 425.) W i e s n e r, P.B. u. M a r s h a l l: Quart.J.Exper. Physiol. 21,1931,147. - 426.) W i l l i a m s, R.G.: Am.J.Anat. 86,1950,343. - 427.) W i l l i a m s, Y a l e: J.Med. 1941,14,201. - 428.) W i l l e n s e, C.H. u. F.J.A. P a e s i: Acta Endocrinologica, 27,1958,59-63. - 429.) W i n g s t r a n d, K.G.: "The structure and development of the avian pituitary" Lund, Verlag C.W.K. Gleerup, 1951. - 430.) W i t s c h i, E.: Endocrinology, 27,1940, 437. - 431.) W o l f e, J.M.: Am.J.Anat. 85,1949,309. - 432.) D e r s. u. B r o w n, A.D.: Endocrinology, 31,1942, 467. - 433.) W o o l e y, G.W.: Recent Progress in Hormone Research.Acad.Press.Inc.Publ. Bd.II. - 434.) D e r s.: Cancer Research. 5,1945,203. - 435.) W r i g h t, P.A.: Anatomical Record, 105,1949,560. - 436.) Y a m a n o t o, H. u. G.W. T u r n e r: Proc.Soc.exper.Biol.Med. 92,1956,130. 437.) Z a c h a r i a s i l, R.: J.Compt.neur. 74,1941,421. - 438.) Z a n d e r u. L a b h a r d t: Klinische Endokrinologie, Springer-Verlag 1957. - 439.) Z a n d e r, J. u. H. S i m m e r: Klin.Wschr. 1954,529. - 440.) Z a r r o w, K.M., G.M. N e h e r, E.A. L a z o w a s e n u. H.A. S a l h a n i k: J.of Clin.Endocrinol.a.Metabol. XVII, 1957,658-666. - 441.) Z o n d e c k, B. u. S u l m a, F.: Vitamines and Hormones, Bd.III. Acad.Press.Inc.Publ. N.Y. 1945. - 442.) Z o n d e c k, B.: Surg.Genec.Obstetr. 88,1949,783. - 443.) D e r s.: "Die Hormone des Ovars und des HVL", Wien 1933. - 444.) Z u c k e r m a n n, S.: Ciba Foundation, Colloquia on Endocrinology, 8,1955,551, London. - 445.) B a u e r, K.F.: Fortschr.d.Medizin, 76,1958,621-622. - 446.) L e o n h a r d, H.: Acta neuroveget. Wien 12,1955,41.

ANHANG

Cyklusphase	Ziffer	Morphologische Kriterien
Diöstrus	0	Schleim, Leukozyten, wenig Epithelien.
Proöstrus	1	Epithelien vermehrt.
	1-2	Epithelien stark vermehrt.
	2	Epithelzellen-Stadium.
	2-3	Epithelien und Schollen.
Östrus	3	Schollen
Metöstrus	3-4	Schollen, Epithelien und Leukozyten.
	4	Leukozyten, Epithelien, wenig Schollen.

Tab.1

Einteilung der morphologischen Kriterien des vaginalen Zellabstrichbildes in Abhängigkeit vom Cyklusabschnitt. Testtier: Ratte oder Maus.
Nach einer Einteilung von Hohlweg (73).

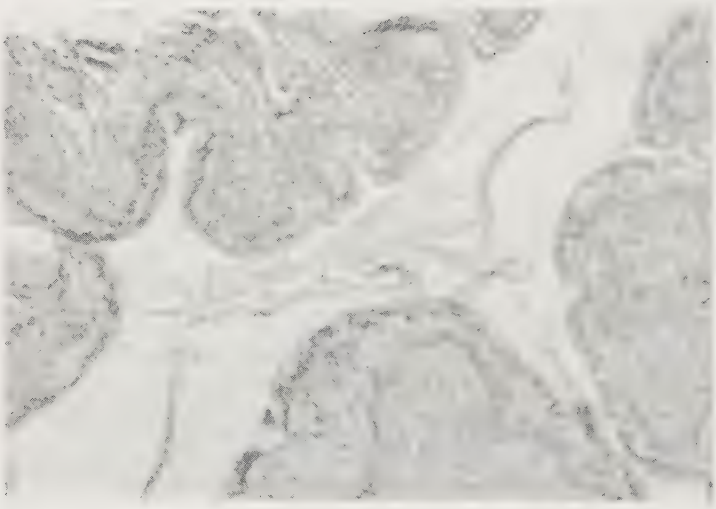


Abb. 1

Schnitt durch die Vagina einer Ratte im Diöstrusstadium.

Im Vaginallumen findet sich Schleim, vereinzelt Leukozyten und nur ganz vereinzelte Epithelien. Im Zellabstrich aus der Vagina ergibt sich das typische Diöstrusbild entsprechend der Ziffer 0 nach Hohlweg.
Das Diöstrusstadium entspricht dem Funktionsbild der Gelbkörperphase.

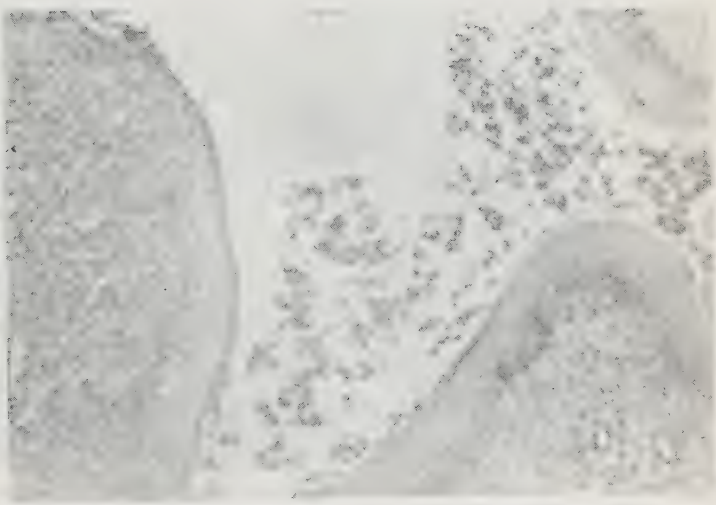


Abb. 2

Schnitt durch die Vagina einer Ratte im Proöstrusstadium.

Im Lumen der Vagina findet sich kein Schleim mehr.
Die Anzahl der Epithelien ist stark vermehrt.
Leukozyten sind ebenfalls vorhanden.
Im Zellabstrich aus der Vagina finden sich:
Vermehrt Epithelien und einzelne Leukozyten,
entsprechend der Ziffer 1 nach Honlweg.
Funktionell entspricht dieses Stadium der Follikelreifung nach abgelaufener Gelbkörperphase.

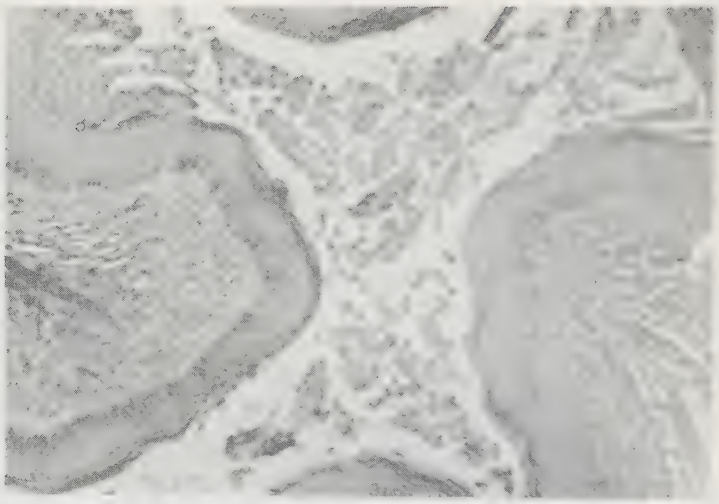


Abb. 3

Schnitt durch die Vagina einer Ratte im Östrusstadium.

In der Vagina finden sich praktisch nur Schollen. Schollen sind oberflächliche Epithelien, die im Verlaufe ihrer Differenzierung verhornt sind. Die Formen sind bizarr und unregelmäßig.
Funktionell entspricht dieses morphologische Bild der Follikelphase mit kräftiger Follikelhormonproduktion. Dieses Bild wiederholt sich am intakten, weiblichen Tier alle 5-7 Tage entsprechend des Cyklus des Tieres.

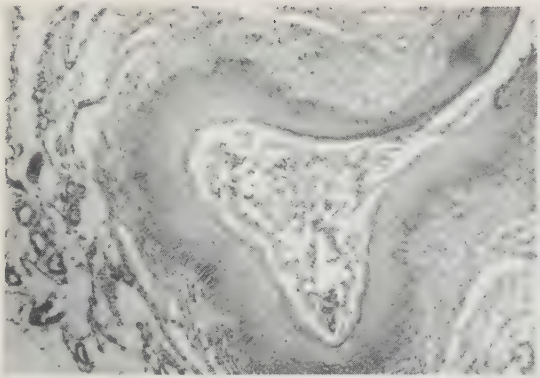


Abb. 4

Schnitt durch die Vagina einer Ratte im Metöstrusstadium. Im Vaginallumen finden sich noch einzelne Schollen als Zeichen des abklingenden Östrusstadiums, weiterhin Epithelien und Leukozyten. Die quantitativen Verschiebungen dieser morphologischen Substrate sind Spiegelbild für den weiteren Funktionsablauf mit Übergang zum Diöstrusstadium. Das vorliegende Bild entspräche im Zellabstrich der Ziffer 3-4 nach Hohlweg.

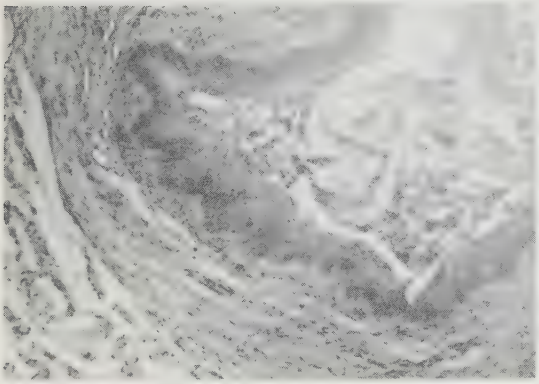


Abb. 5

Vagina einer Ratte im Metöstrus.
Funktionell zu einem späteren Zeitpunkt wie in Abb. 4 dargestellt. Die Schollen sind ganz verschwunden aus dem Bild und man erkennt eine eben beginnende Schleimreaktion. Außerdem sind Epithelien und Leukozyten nachweisbar. Zellabstrichbild nach Hohlweg etwa der Ziffer 4 entsprechend.

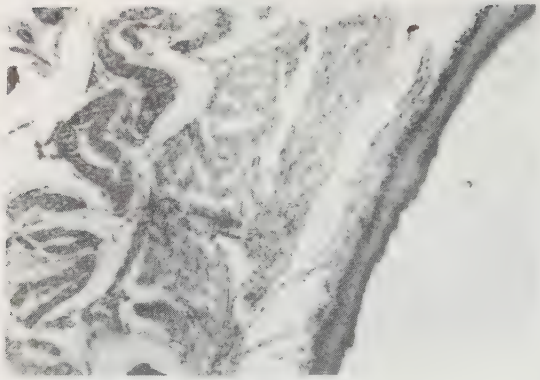


Abb. 6

Histologischer Schnitt durch die normale Kropfdrüse einer Taube. Im Epithel keine Zeichen für eine stärkere epitheliale Proliferation. Oberfläche in der gewöhnlichen Schichtstärke ausgebildet.
Bild des sog. negativen Testes.

Abb. 7

Histologischer Schnitt durch das Epithel einer nicht behandelten Kropfdrüse der Taube. Am Epithel keine Reaktion erkennbar. Es findet sich ein normaler Epithelüberzug
Bild des negativen Testes.

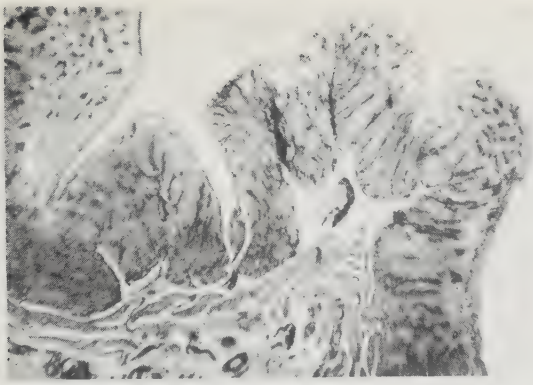


Abb. 8

Positive Reaktion am Epithel des Taubenkropfes nach Applikation LTH-aktiver Substanzen.

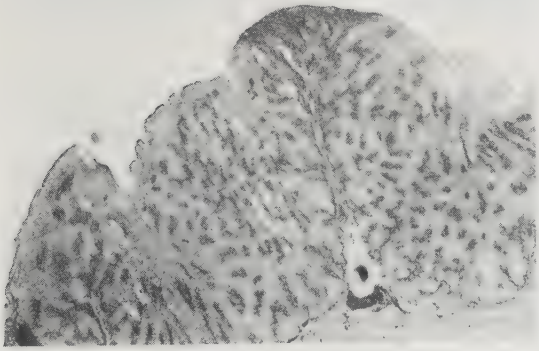


Abb. 9

Positiver Test am Epithel der Kropfdrüse einer Taube nach Injektion von LTH-aktiver Stoffe.

In beiden Aufnahmen sind histologische Schnitte durch die Kropfdrüse einer Taube dargestellt. Die Tiere waren mit LTH-Substanz behandelt. Durchführung der Behandlung nach der Methode der lokalen Stimulierung. Man erkennt die sehr starke Epithelproliferation. Der Epithelüberzug ist verbreitert infolge der gesteigerten Wachstumstendenz stellenweise auch papillär aufgeworfen. Die Mitosefrequenz ist stark erhöht. Die Unterschiede zum unbehandelten Tier sind unverkennbar.

Abb. 10

Positiver Taubenkropftest nach Applikation von chemisch aufgearbeiteter Leber von Ratten. Chemische Extraktion nach der Methode von Li. Die starke Proliferation des Epithels ist deutlich zu erkennen. Starke Faltenbildung infolge des gesteigerten Epithelwachstums. Bei weiterer Bildvergrößerung ist die erhöhte Mitosefrequenz zu erkennen.

Tier Nr.	Testsubstanz Dosis/Tag	Anzahl der Behandlungs-tage	Untersucht nach St.	Reaktion
1	3 x 0,2 ccm	3	96	+
2	3 x 0,2 ccm	3	96	+++
3	3 x 0,2 ccm	3	96	+
4	3 x 0,2 ccm	3	96	+/-
5	3 x 0,2 ccm	3	96	++
6	3 x 0,2 ccm	3	96	+
7	3 x 0,2 ccm	3	96	-
8	3 x 0,2 ccm	3	96	++
9	3 x 0,2 ccm	3	96	+++
10	3 x 0,2 ccm	3	96	+
11	3 x 0,2 ccm	3	96	-
12	3 x 0,2 ccm	3	96	+
13	3 x 0,2 ccm	3	96	++
14	3 x 0,2 ccm	3	96	++
15	3 x 0,2 ccm	3	96	+
16	3 x 0,2 ccm	3	96	++

Tab. 2

Biologische Nachweisreaktion auf LTH-Aktivität in der normalen Rattenleber. Das Ausgangsmaterial stammt aus einem Kollektiv (etwa 7-10 Tiere) mit einem Lebergewicht von insgesamt 50 Gramm. Die Untersuchung erfolgte pro Tiergruppe an 4 Tauben. Die biologische Reaktion wurde nach der Methode der lokalen Stimulation durchgeführt.

Tier Nr.	Testsubstanz Dosis/Tag (LTH-Standart)	Anzahl der Behandlungs-tage	Untersucht nach St.	Reaktion
1	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	++
2	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	+++
3	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	++
4	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	+
5	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	+
6	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	++
7	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	++
8	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	+/-
9	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	++
10	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	+++
11	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	+++
12	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	++
13	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	+
14	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	++
15	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	+/-
16	0,05 Gamma in 3 x 0,2 ccm	3	96	++

Tab. 3

Biologische Nachweisreaktion auf LTH-Aktivität getestet gegen den internationalen Standart-LTH in einer Dosis von 0,05 Gamma. Kontrolle zu den Ergebnissen in Tab.2. Die Untersuchungsbedingungen waren gleichartig.
Durchführung an der Epithelreaktion des Taubenkropfes. Methode der lokalen Stimulation.

Gruppe untersuchte Tiere	Testtier Nr.	Vorbehandlung Östradiolbenzoat Dosis	Applikationsform. Sesamöl pro Tag	Tage	Untersucht nach St.	Reaktion
	1	20 mictgr.	3x0,2 ccm	4	96	+++
I	2	20 mictgr.	3x0,2 ccm	4	96	++
	3	20 mictgr.	3x0,2 ccm	4	96	+++
	1	20 mictgr.	3x0,2 ccm	4	96	++
II	2	20 mictgr.	3x0,2 ccm	4	96	+++
	3	20 mictgr.	3x0,2 ccm	4	96	++
	1	20 mictgr.	3x0,2 ccm	4	96	+
III	2	20 mictgr.	3x0,2 ccm	4	96	+++
	3	20 mictgr.	3x0,2 ccm	4	96	+?

Tab. 4

Untersuchungen der Rattenleber auf LTH-Aktivität nach vorhergehender Stimulierung mit Östradiolbenzoat. Nachweis der Reaktion am Taubenkropfepithel nach der Methode der lokalen Stimulierung.

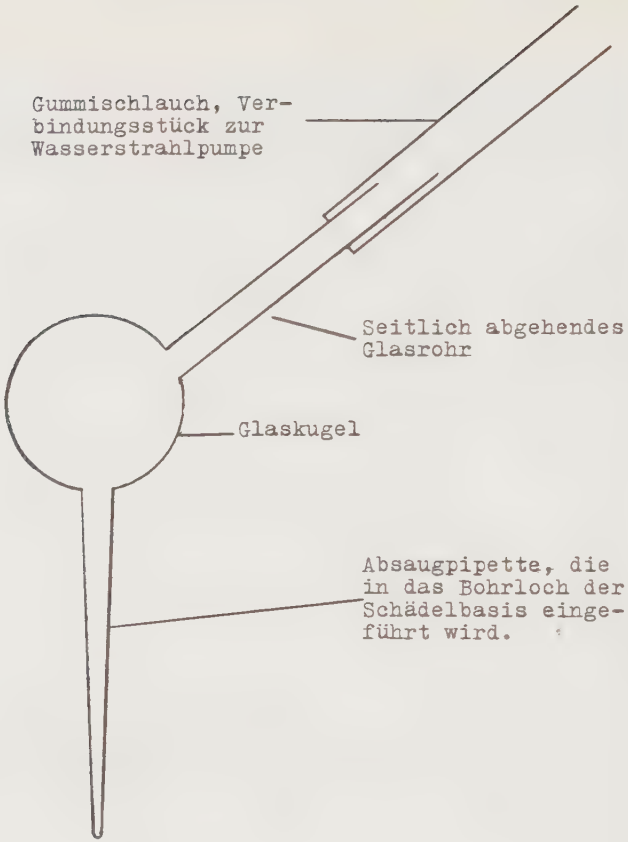


Abb. 11

Skizzierte Wiedergabe der von uns modifizierten Absaugpipette. Der Unterschied zu den allgemein verwendeten geraden Glaspipetten besteht in der Zwischenschaltung einer Glaskugel und dem seitlichen Abgang des Verlängerungsrohres zur Wasserstrahlpumpe. Die abgesaugten Gewebsteile bzw. die Hypophyse haften bei dieser Konstruktion der Glaskugel an und können makroskopisch beurteilt werden.

Untersuchungen auf LTH-Aktivität der Leber
an hypophysektomierten Tieren

(Taubenkropftest)

Tier-gruppe	Testtier Nr.	Testsubstanz pro Tag und Dosis	Behandlungs-tage	Unter-sucht nach St.	Reak-tion
	1	3 x 0,2 ccm	3	96	-
I	2	3 x 0,2 ccm	3	96	-
	3	3 x 0,2 ccm	3	96	-
II	1	3 x 0,2 ccm	3	96	-
	2	3 x 0,2 ccm	3	96	-
	3	3 x 0,2 ccm	3	96	-
	1	3 x 0,2 ccm	3	96	-
III	2	3 x 0,2 ccm	3	96	-
	3	3 x 0,2 ccm	3	96	-

Tab. 5

Biologische Untersuchungen auf LTH-Aktivität des Lebergewebes bei hypophysektomierten Ratten. Die biologische Nachweisrreaktion wurde nach der Methode der lokalen Stimulation am Epithel des Taubenkropfes durchgeführt.

Biologischer Nachweis von LTH-Aktivität in der Plazenta von Ratten nach vorhergehender Hypophysektomie.

(Taubenkropftest)

Tier Nr.	Injektion von Plazentahomogenat. Dosis/Tag	Behandlungsdauer. Tage	Untersucht nach Std.	Reaktion
1	3 x 0,2 ccm	3	96	-
2	3 x 0,2 ccm	3	96	-
3	3 x 0,2 ccm	3	96	-
1	3 x 0,2 ccm	3	96	-
2	3 x 0,2 ccm	3	96	-
3	3 x 0,2 ccm	3	96	-
1	3 x 0,2 ccm	3	96	-
2	3 x 0,2 ccm	3	96	-
3	3 x 0,2 ccm	3	96	-

Tab. 6

Biologische Untersuchung der LTH-Aktivität der Rattenplazenta vom 11. Tag der Schwangerschaft. Alle Tiere waren am 8. Tag der Gravidität hypophysektomiert worden. Zum biologischen Nachweis wurde das homogenisierte Plazentargewebe verwendet. Die Ausgangsmengen waren in allen Gruppen gewichtsgleich. Fehlendes Volumen wurde durch physiologische Kochsalzlösung aufgefüllt.
Durchführung an der Epithelreaktion am Taubenkropf.

Biologischer Nachweis von LTH-Aktivität an der Plazenta von hypophysektomierten Ratten.

(Taubenkropftest)

Tier Nr.	Injektion von Plazentahomogenat Dosis/Tag	Behandlungs-dauer	Untersucht nach Std.	Reak-tion
1	3 x 0,2 ccm	3	96	-
2	3 x 0,2 ccm	3	96	-
3	3 x 0,2 ccm	3	96	-
1	3 x 0,2 ccm	3	96	-
2	3 x 0,2 ccm	3	96	-
3	3 x 0,2 ccm	3	96	-
1	3 x 0,2 ccm	3	96	-
2	3 x 0,2 ccm	3	96	-
3	3 x 0,2 ccm	3	96	-

Tab. 7

Biologische Untersuchung über LTH-Aktivität der Rattenplazenta vom 15. Tag der Schwangerschaft. Die Tiere waren am 12. Tag der Gravidität hypophysektomiert worden. Zum biologischen Nachweis wird Plazentahomogenat verwendet in gewichtsgleichem Verhältnis bei allen Tieren. Zur Auffüllung des Volumens wurde physiol.NaCl-Lösung verwendet. Durchführung der Reaktion am Taubenkropftest.

Biologischer Nachweis von LTH-Aktivität in der Plazenta vom 12. Schwangerschaftstag nicht-hypophysektomierter Ratten.

Tier Nr.	Injektion von Plazentahomogenat Dosis/Tag	Behandlungsdauer in Tagen	Untersucht nach Std.	Reaktion
1	3 x 0,2 ccm	3	96	++
2	3 x 0,2 ccm	3	96	+
3	3 x 0,2 ccm	3	96	+/-
1	3 x 0,2 ccm	3	96	+++
2	3 x 0,2 ccm	3	96	++
3	3 x 0,2 ccm	3	96	+++
1	3 x 0,2 ccm	3	96	+
2	3 x 0,2 ccm	3	96	+
3	3 x 0,2 ccm	3	96	-

Tab. 8

Nachweis der LTH-Aktivität der Rattenplazenta vom 12. Schwangerschaftstag. Die Tiere waren nicht hypophysektomiert. Zum Nachweis wurde homogenisiertes Plazentagewebe verwendet in einem gewichtsgleichen Verhältnis bei allen Tieren.

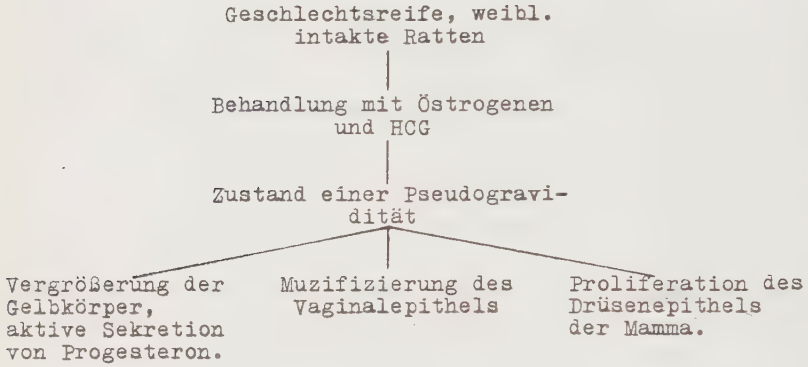
Deziduomnachweis beim pseudograviden Tier nach Hypophysektomie.

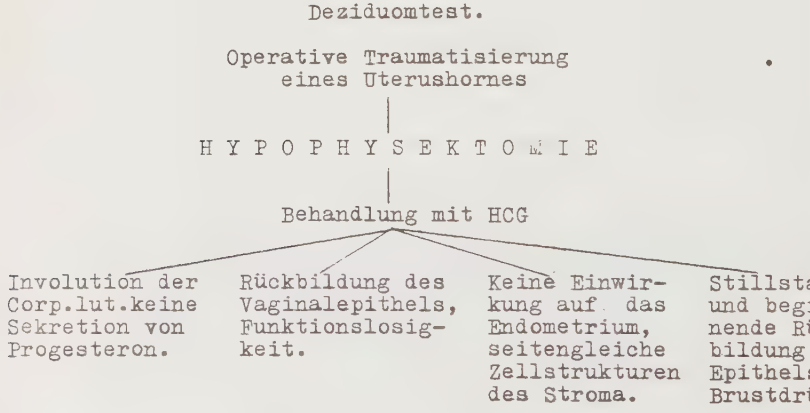
Tier Nr.	Vorbehandlung Östradiol-benzoat	HCG	Tage		Nachbehandlung Dosis HCG	Tage	Reaktion
1	20 Gamma	10 I.E.	5		20 I.E.	5	-
2	20 Gamma	10 I.E.	5		20 I.E.	5	-
3	20 Gamma	10 I.E.	5		20 I.E.	5	-
4	20 Gamma	10 I.E.	5		20 I.E.	5	-
5	20 Gamma	10 I.E.	5	Hypo-	20 I.E.	5	-
6	20 Gamma	10 I.E.	5	physektomie	20 I.E.	5	-
7	20 Gamma	10 I.E.	5	am 5.	20 I.E.	5	-
8	20 Gamma	10 I.E.	5	Tag der Behand-	20 I.E.	5	-
9	20 Gamma	10 I.E.	5	lung.	20 I.E.	5	-
10	20 Gamma	10 I.E.	5		20 I.E.	5	-
11	20 Gamma	10 I.E.	5		20 I.E.	5	-
12	20 Gamma	10 I.E.	5		20 I.E.	5	-

Tab. 9

Deziduomnachweis als Merkmal einer aktiven Sekretion des Corpus luteum. Vorbehandlung mit Östrogenen und HCG zur Stimulierung des Ovars und Entwicklung einer Pseudogravidität. Nach Hypophysektomie erfolgte Nachbehandlung mit HCG. Nach den vorliegenden Ergebnissen ist nach Entfernung der Hypophyse keine Funkti s-tüchtigkeit des Gelbkörpers nachweisbar. Keine positive Deziduomreaktion nachweisbar.

Schematisierte Darstellung des luteotrophen Effektes von HCG am hypophysektomierten Tier.





Tab. 10

Deziduomnachweis am nicht-hypophysektomierten pseudograviden Tier.

Tier Nr.	Vorbehandlung Östradiol-benzoat	HCG	Dauer Tage		Nachbehandlung HCG	Dauer Tage	Reaktion
1	20 Gamma	10 I.E.	5		20 I.E.	5	+
2	20 Gamma	10 I.E.	5	O	20 I.E.	5	+/-
3	20 Gamma	10 I.E.	5	p	20 I.E.	5	++
4	20 Gamma	10 I.E.	5	e	20 I.E.	5	++
5	20 Gamma	10 I.E.	5	r	20 I.E.	5	-
6	20 Gamma	10 I.E.	5	a	20 I.E.	5	+++
7	20 Gamma	10 I.E.	5	t	20 I.E.	5	+/-
8	20 Gamma	10 I.E.	5	i	20 I.E.	5	++
9	20 Gamma	10 I.E.	5	o	20 I.E.	5	+
10	20 Gamma	10 I.E.	5	n	20 I.E.	5	+++
11	20 Gamma	10 I.E.	5		20 I.E.	5	+

+++ = stark positiv
++ = positiv
+ = schwach positiv
+/- = zweifelhaft
- = negativ

Tab. 11

Deziduomnachweis als Merkmal einer aktiven Sekretion des Corp.lut. Vorbehandlung mit Östrogenen und HCG zur Stimulierung des Ovars und Entwicklung einer Pseudogravidität. Die Tiere wurden nicht hypophysektomiert. Nach Traumatisierung des Uterus erfolgte Nachbehandlung mit HCG. Nach den Ergebnissen muß aktive Sekretion der Corp.lut. stattgefunden haben, nachweislich an der positiven Deziduomreaktion des Endometriums.

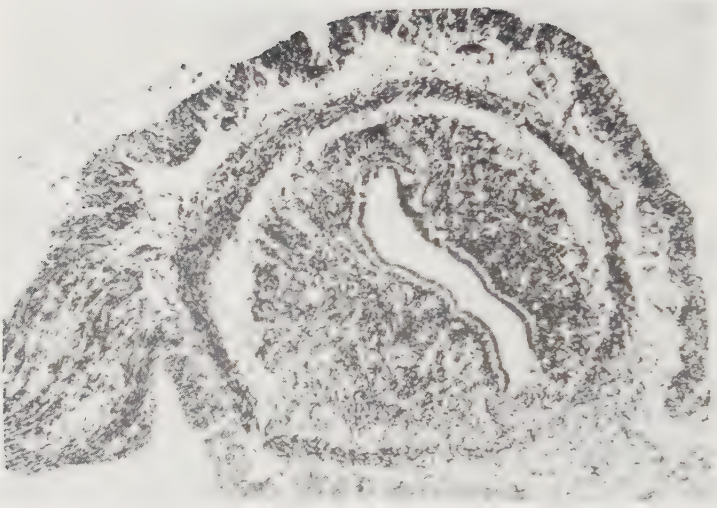


Abb. 12

Schnitt durch einen normalen Uterus der Ratte. Man erkennt deutlich die äußere longitudinale und die innere zirkuläre Muskelschicht. Die Schleimhaut besteht aus Stroma und Epithel. Die kleinen Drüsen münden in das epithelial ausgekleidete Lumen. Die Stromazellkerne sind klein-spindelig und rel. dicht gelagert. Eine besondere hormonelle Veränderung ist an diesen Strukturen nicht zu erkennen.

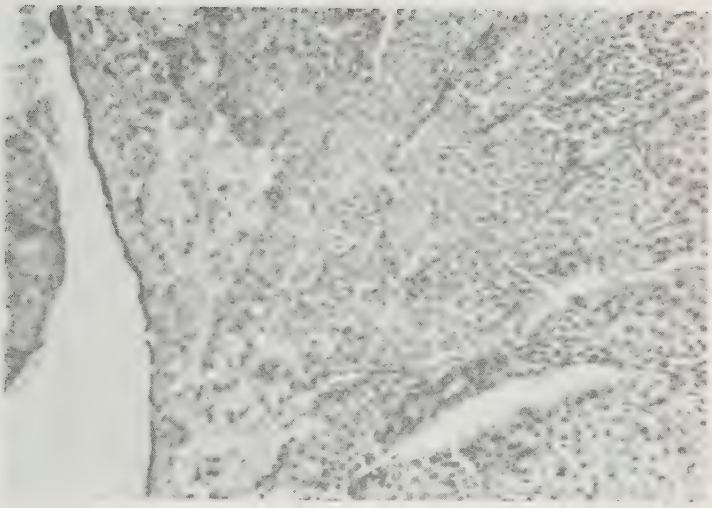


Abb. 13

Schnitt durch einen Rattenuterus nach Traumatisierung (Durchziehen eines Seidenfadens).
Im Bereich der traumatisierten Stelle hat sich das Stroma dezidual umgewandelt. Man erkennt das deutlich aufgelockerte Stroma. Der sonst buchtenförmige Epithelsaum ist völlig gestreckt, das Lumen durch die starke Entwicklung des Stromas eingeengt. Die Reaktion läßt sich auf die Sekretion von Gelbkörperhormon durch funktionierende Gelbkörper zurückführen.
Positive Reaktion des sog. Deziduom- oder Plazentomtestes.

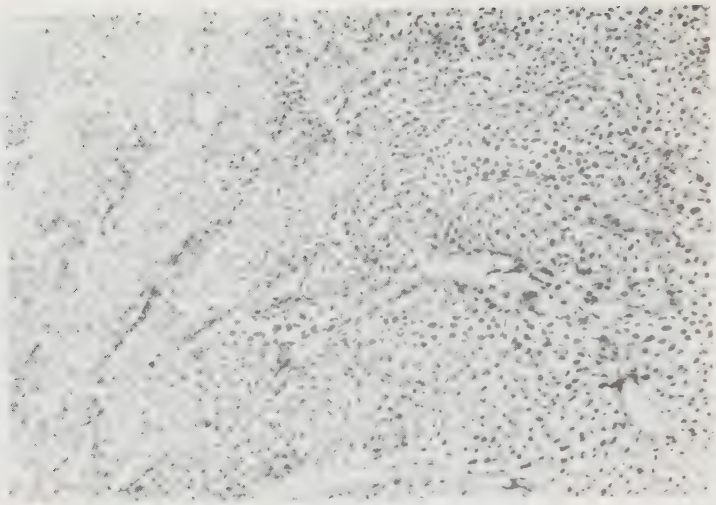


Abb. 14

Ausschnitt aus dem Stroma des Endometriums eines Rattenuterus. Die Stromazellkerne sind größer, rundlicher und lassen in zahlreichen Fällen einen deutlichen Nucleolus erkennen.
Der Zellaufbau entspricht einer dezidualen Umwandlung des Stroma im Bereich der traumatisierten Stelle nach der Methode des sog. Deziduomtestes. Die Strukturveränderungen lassen auf funktionstüchtige Corpora lutea bzw. auf Gelbkörperhormoneinfluß schließen.
Positive Reaktion des sog. "Deziduomtestes".

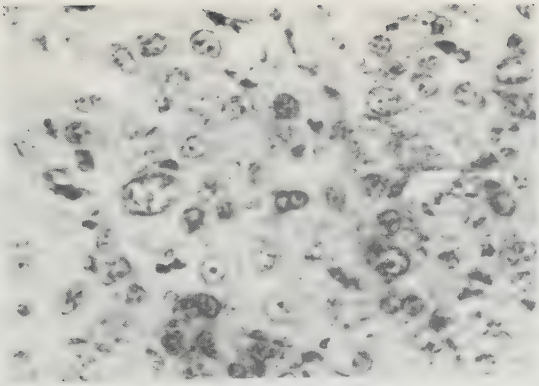


Abb. 15

Zellbild aus dem Stroma des Endometriums eines Rattenuterus. Positive Deziduomreaktion. Zarte Kernmembran, die Nucleolen heben sich scharf ab. Das vorhandene Chromatin ist locker in kleine Partikelchen angeordnet und rel. gleichmäßig verteilt. Die Zellen sind im Ganzen größer und auch rundlicher.

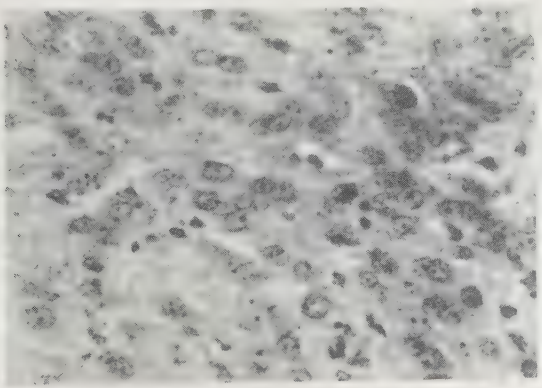


Abb. 20

Ausschnitt aus dem Stroma endometrii eines Rattenuterus. Positive Deziduomreaktion nach Traumatisierung eines Uterushornes. Die Zellen der Stromaverbände zeigen deutlich die Struktur dezidualer Umwandlung. Die weiteren morphologischen Kriterien der pos. Reaktion (siehe Abb.15) sind auch hier vorhanden.

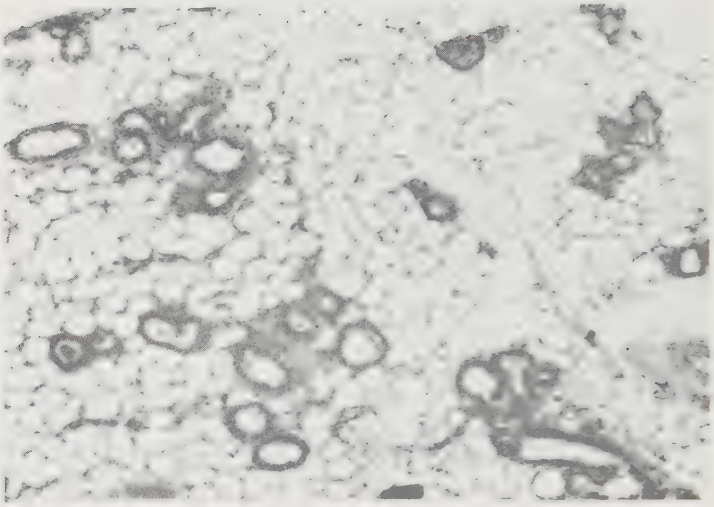


Abb. 17

Schnitt durch die Brustdrüse einer intakten, nicht graviden Ratte. Im reichlich vorhandenen Fettgewebe nur vereinzelt kleine Drüsenkomplexe, die in Bindegewebssträngen liegen. Das Epithel zeigt keine Zeichen für epitheliale Proliferation. Die Bilder entsprechen dem Funktionszustand der ruhenden Brustdrüse. Bei den dargestellten Lumina handelt es sich um angeschnittene Drüsenausführungsgänge.

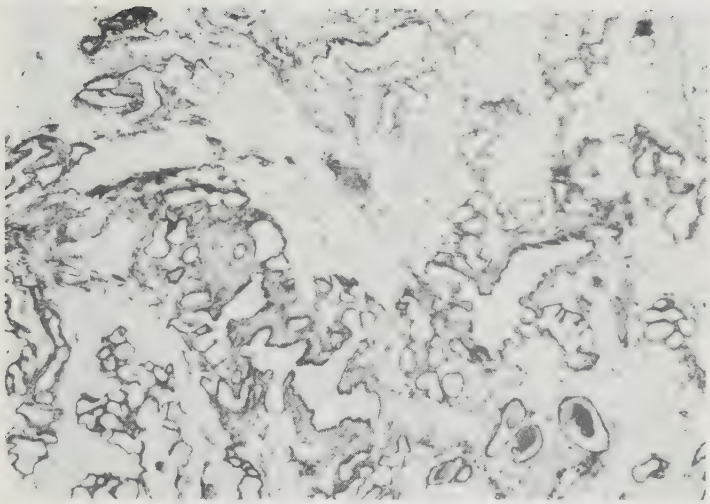


Abb. 18

Histologischer Schnitt durch die Brustdrüse einer Ratte. Man erkennt eine Proliferation der Drüsenläppchen mit kräftig entwickeltem Epithel. Die Ausführungsgänge sind erweitert. Im Vergleich zu Abb.17 erkennt man eine Wachstumstendenz infolge einer Behandlung mit Östrogenen und HCG. Die Hypophyse der Tiere war intakt. Es konnte infolgedessen das mammogene Prinzip des HVL ebenfalls einwirken.

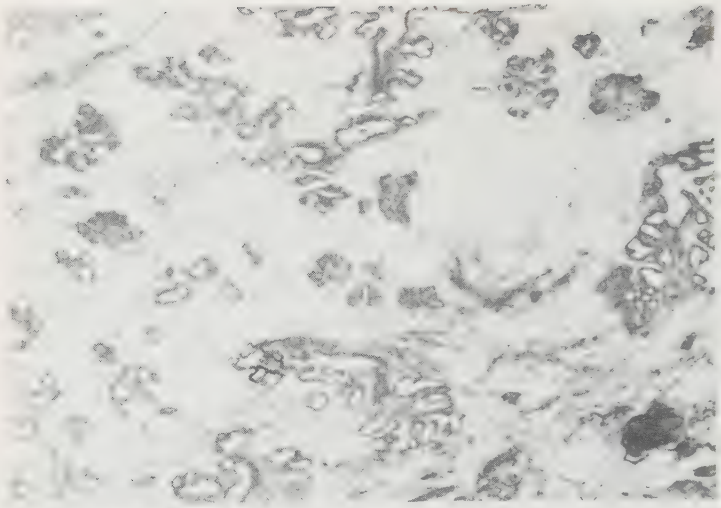


Abb. 19

Histologischer Schnitt durch die Brustdrüse einer Ratte nach Behandlung mit Östrogenen und HCG. Die Hypophyse dieser Tiere war intakt. Man erkennt eine deutliche Proliferation des Drüsenparenchyms. Starke Zunahme der Drüsenläppchen und auch deutliche Zunahme des Epithelwachstums an den Drüsenausführungsgängen. Die Unterschiede zur ruhenden Drüse (vgl. Abb.17) sind eindeutig.

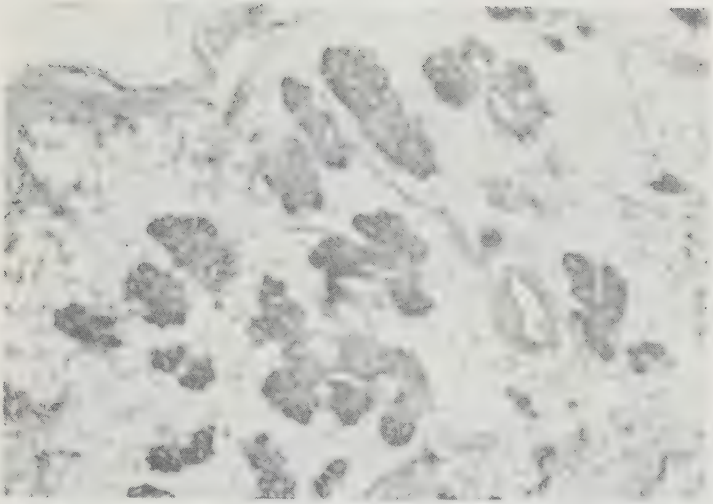


Abb. 20

Schnitt durch die Brustdrüse einer Ratte.
Vorbehandlung mit Östrogenen und HCG bei intakter Hypophyse.
Starke Epithelproliferation an den Drüsenacini und Drüsenausführungsgängen. Ergebnis der Zusammenwirkung von Ovarialhormonen und der mammotropen Wirkung des HCG-stimulierten LTH durch die Hypophyse.

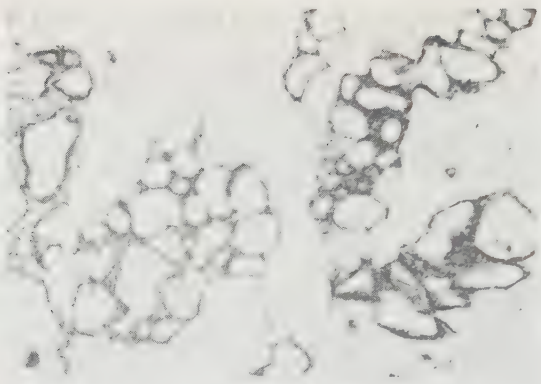


Abb. 21

Schnitt durch die Brustdrüse einer Ratte.
Ausschnittvergrößerung aus Abb. 19.

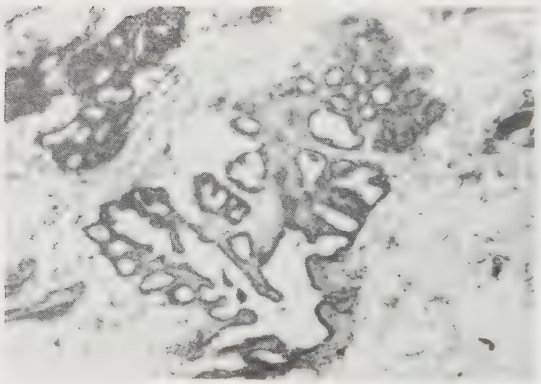


Abb. 22

Schnitt durch die Brustdrüse einer Ratte.
Ausschnittvergrößerung aus Abb. 20.

Modifikation der Hooker-Forbes-Test Operationstechnik.

(Eigene Technik)

Abb. 23

Die mit Äther narkotisierten Mäuse werden in Bauchlage fixiert. Nach Entfernung der Haare und Jodierung wird neben der Wirbelsäule, etwa in Höhe des Beckenkammes eine kleine Stichinzision gesetzt und die Haut durchtrennt. Die Muskulatur wird stumpf gespalten und dann das Peritoneum durchtrennt. Die Wunde ist unter normalen Bedingungen etwa 0,5 bis 0,8 cm lang. Blutungen treten im allgemeinen bei dieser Operation nicht auf.
Die Abb. zeigt die Stelle, wo durch Stichinzision eingegangen wird.

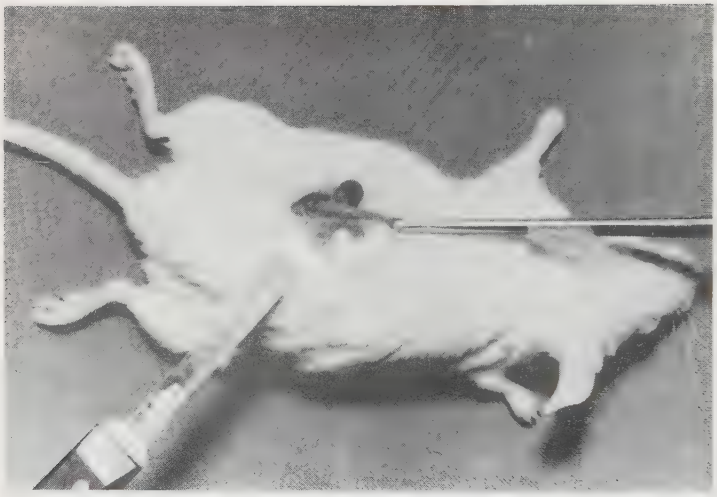


Abb. 24

Nach Eröffnung des Peritoneums geht man mit einer anatomischen Pinzette ein und ergreift das auf dieser Seite liegende Uterushorn am oberen Ende. Es kann ohne Schwierigkeiten hervorgeholt werden. Wegen der guten Beweglichkeit des Mesometriums kommt es dabei im allgemeinen nicht zu Spannungen des Gewebes. Auf der Abb. ist das Uterushorn erfaßt. Man legt es auf einen kleinen Bauchspatel, um die evtl. nachdrängenden Bauchorgane wegdrücken zu können. Das gleiche Instrument wird beim Aufsuchen des Uterushornes benutzt.

Abb. 25

Das hervorgeholte Uterushorn wird auf einem mit physiologischer Kochsalzlösung angefeuchteten Tuch (Austrocknung, Sterilität!) ausgebreitet. Das Mesometrium ist auf dieser Abb. nicht zu sehen, weil es sich unter das Uterushorn projiziert.

Abb. 26

Das craniale Ende des Uterushornes wird mit einem Seidenfaden ligiert. Der zweite Faden, etwa 0,5 cm caudal davon, wird zunächst nur geknüpft, aber noch nicht angezogen. Auf diese Weise ist ein Segment von 0,5 cm Länge durch die beiden Ligaturen markiert. Die Einführung der Fäden vollzieht sich auf dem sterilen Tuch.

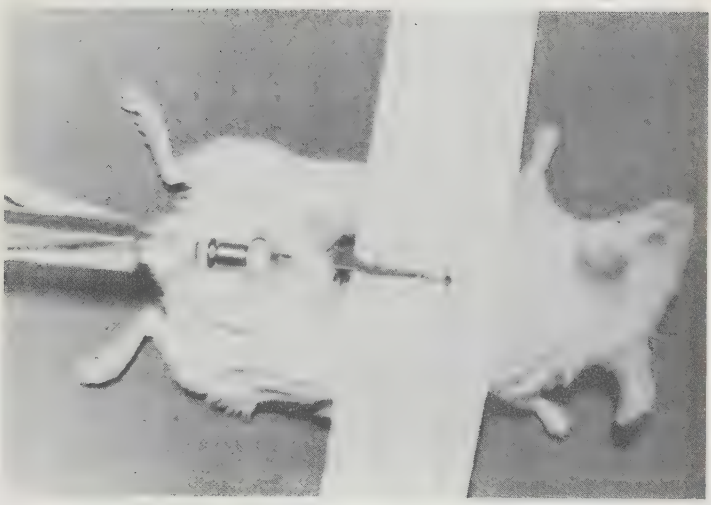


Abb. 27

In das durch die beiden Ligaturen markierte Uterussegment wird nun vom caudalen Ende her eine 20iger Kanüle eingeführt. Die caudale Ligatur ist noch nicht festgezogen. Wenn man die Kanüle bis an das obere Ende des Segmentes eingeschoben hat, wird durch Drehung an der Mikrometerschraube (siehe Abb.29) und unter gleichzeitigem Zurückziehen der Kanüle die Testsubstanz injiziert. Gleichzeitig wird die caudalwärts liegende Ligatur fest angezogen. Nach Applikation der geplanten Testsubstanz kann dann die Kanüle herausgezogen werden.

Abb. 28

Nach Injektion der Testsubstanz wird dann das Uterushorn zurückverlagert, nachdem zuvor die festgezogenen Ligaturen gekürzt wurden. Die Wunde wird dann durch eine einfache Hautnaht verschlossen. Bewährt hat sich dabei die einfache Z-Naht. Durch die damit verbundene Raffung kommt im allgemeinen ein ausreichender Verschluß zustande. Jodierung.

Abb. 29

"Agla" Mikrometerspritze. Durch Drehung der Mikrometerschraube läßt sich eine genau bestimmbare Menge applizieren. Am oberen Ende befindet sich eine Stricheinteilung, die mit der Glasspritze geeicht ist. Die injizierten Mengen können auf diese Weise sehr genau bestimmt werden. Am vorliegenden Modell bis 0,0006 ccm.

Abb. 30

Uterus einer kastrierten Maus.
Man erkennt die äußere Längs- und die innere zirkulär verlaufende Muskelschicht. Das Stroma endometrii ist geschrumpft, die Zellen liegen dicht beieinander. Das Lumen ist ziemlich gestreckt und von einem Saum einschichtiger Zylinderepithelien ausgekleidet. Einzelne Drüsen im Stroma sind von funktionslosem Epithel ausgekleidet.

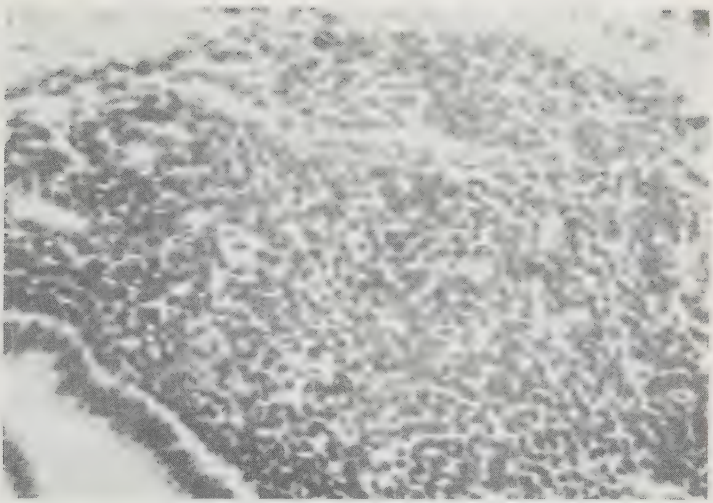


Abb. 31

Abschnitt aus dem Endometrium einer kastrierten Maus. Die Kerne der Stromazellen sind schmal, mehr spindelförmig und ziemlich dicht gelagert. Ein Nucleolus ist in diesen Zellen nicht sicher zu beobachten.
Der Ausschnitt stellt eine Vergrößerung aus dem Übersichtsbild Abb.30 dar.
Im Uterus der geschlechtsreifen, intakten Maus sind die Zellformationen lockerer, die Zellen selbst etwas größer.

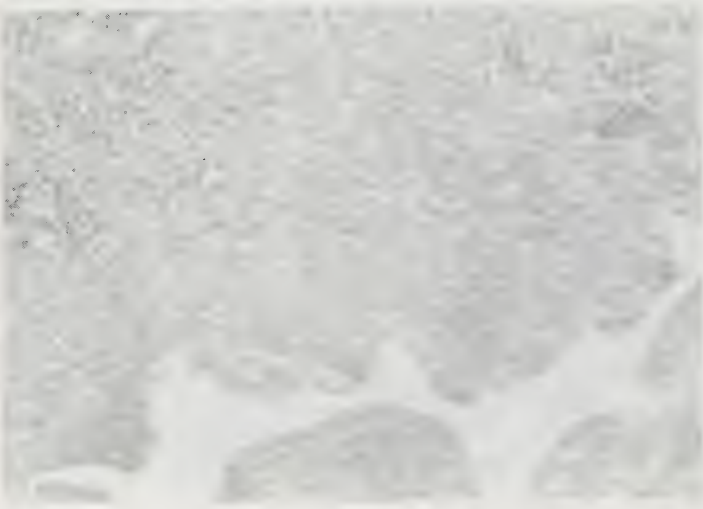


Abb. 32

Positiver Progesteron-Effekt im Stroma des Endometriums bei der Maus (Methode nach Hooker-Frobes). Hypertrophie des Stroma. Die Zellen sind deutlich größer. Die Zellkerne rundlicher, voluminöser, das Chromatin locker, gleichmäßig verteilt. Die positive Reaktion ist in diesem Fall bereits bei dieser Vergrößerung zu erkennen.

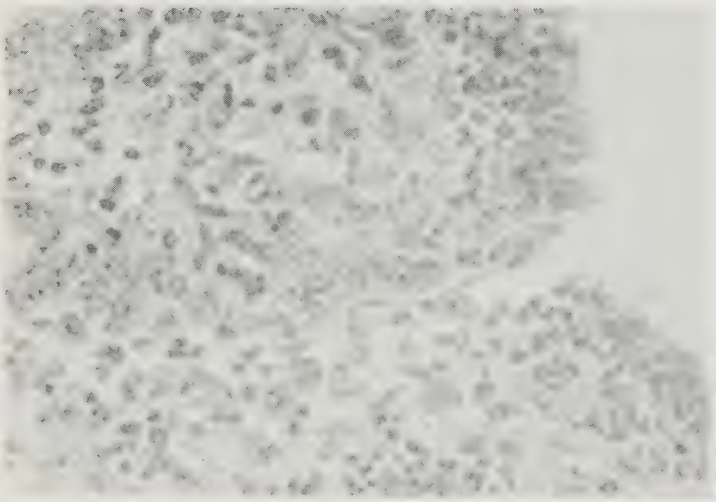


Abb. 33

Ausschnittsvergrößerung aus der Abb.32.
Man erkennt bei der weiteren Vergrößerung die deutlich mehr rundliche Kernform, den Nucleolus und die lockere, rel. gleichmäßige Chromatinverteilung. Vereinzelt sind die Zellstrukturen fast dezidualen Formationen vergleichbar.
Zahlreiche typische positive Kerne mit zarter Kernmembran und mehr zentral gelegenem Nucleolus.

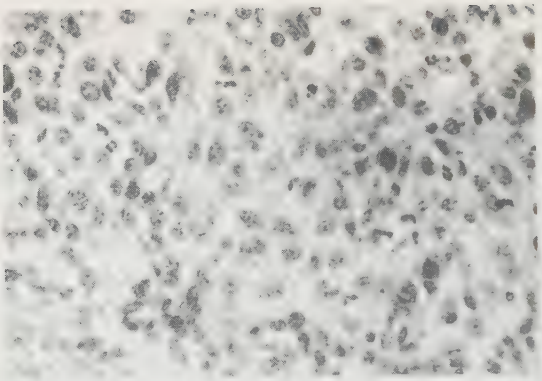


Abb. 34

Ausschnitt aus einem Mäuseendometrium mit typischen, positiven Kernveränderungen. Allgemein fast deziduale Zellstrukturen mit voluminösen, rundlichen Kernen.

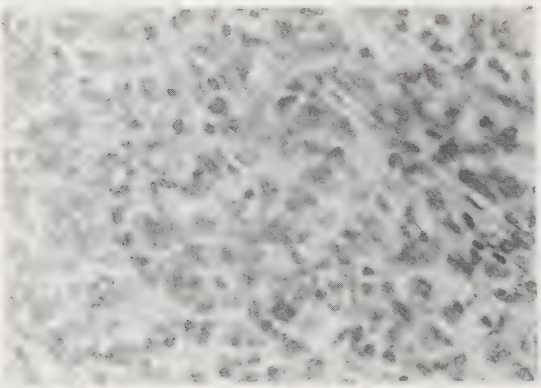


Abb. 35

Ausschnitt aus dem Stroma endometrii einer Maus. Typische, positive Hooker-Forbes-Reaktion mit entsprechenden Zell- und Kernumwandlungen. Gleichmäßige aufgelockerte Chromatinverteilung, sichtbarer Nucleolus, zarte Kernmembran. Rundliche Form.

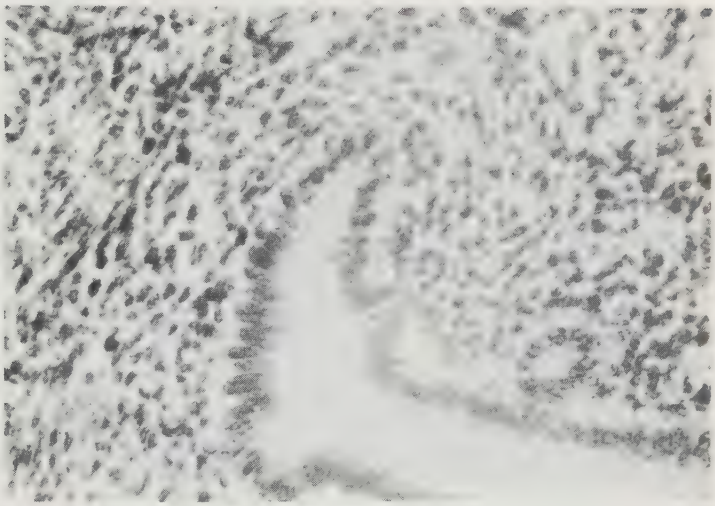


Abb. 36

Ausschnitt aus dem Endometrium einer geschlechtsreifen, intakten Maus. Die Abb. zeigt die Zellstrukturen des nicht kastrierten Tieres während des Östrusstadiums. Im Vergleich zu Abb. 31 erkennt man größere Zellkerne, die aber ebenfalls noch mehr spindelige Formen aufweisen. Die Zellen liegen locker angeordnet und sind voluminöser. Das Chromatin liegt aufgelockert, ein Nucleolus ist nicht festzustellen. Das Epithel ist höher, die Kerne mittelständig, stellenweise retronucleäre Vakuolenbildung.

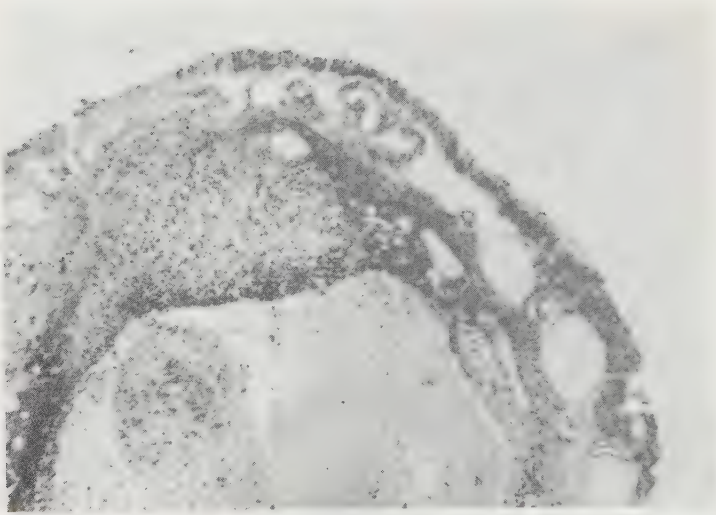


Abb. 37

Uterushorn nach Verletzung bei der Operation. In diesem Falle wurden die Gefäße im Mesometrium unterbunden. Man erkennt die maximale Stauung der Blut- und Lymphgefäße. Das Stroma reagiert mit einer fortschreitenden nekrotischen Veränderung. Hormonelle Testversuche sind nicht mehr möglich.

Biologischer Nachweis von Progesteron im Kaninchenblut nach einmaliger Stimulation mit HCG

(Biol. Nachweis durch Hooker-Forbes-Test)

Tiere Kaninchen Nr.	Maus Nr.	Vorbehandlung	Dauer Tage	Hooker-Forbes-Aktivität
	1	50 I.E. HCG	1	negativ
1	2	50 I.E. HCG	1	negativ
	3	50 I.E. HCG	1	negativ
	1	50 I.E. HCG	1	negativ
2	2	50 I.E. HCG	1	negativ
	3	50 I.E. HCG	1	negativ
	1	50 I.E. HCG	1	negativ
3	2	50 I.E. HCG	1	negativ
	3	50 I.E. HCG	1	negativ
	1	50 I.E. HCG	1	negativ
4	2	50 I.E. HCG	1	negativ
	3	50 I.E. HCG	1	negativ

Tab. 12

Durch die Applikation von HCG kommt es beim Kaninchen zur Ovulation und Corpus luteum-Bildung. Wenn keine weitere, hormonelle Stimulation hinzukommt, bleibt der Gelbkörper ohne Funktion d.h. es kommt nicht zur Sekretion von Gelbkörperhormon. Die Nachweise am Hooker-Forbes-Test verliefen in diesen Fällen negativ.

Biologischer Nachweis der luteotrophen Wirkung von HCG am Hooker-Forbes-Test.

Tiere Kaninchen Nr.	Maus Nr.	Vorbehandlung der Kaninchen	Dauer Tage	Hooker-Forbes-Aktivität (Maus)
	1	50 I.E. HCG	5	positiv
1	2	50 I.E. HCG	5	positiv
	3	50 I.E. HCG	5	negativ
	1	50 I.E. HCG	5	positiv
2	2	50 I.E. HCG	5	negativ +)
	3	50 I.E. HCG	5	positiv
	1	50 I.E. HCG	5	positiv
3	2	50 I.E. HCG	5	negativ
	3	50 I.E. HCG	5	negativ
	1	50 I.E. HCG	5	positiv
4	2	50 I.E. HCG	5	positiv
	3	50 I.E. HCG	5	positiv
	1	50 I.E. HCG	5	positiv
5	2	50 I.E. HCG	5	zweifelhaft
	3	50 I.E. HCG	5	positiv
	1	50 I.E. HCG	5	negativ
6	2	50 I.E. HCG	5	zweifelhaft
	3	50 I.E. HCG	5	negativ

Tab. 13

Nach längerer Applikation von HCG scheint eine Stimulation des Gelbkörpers zu erfolgen. Im Hooker-Forbes-Test ist eine Aktivität d.h. eine Sekretion durch den Gelbkörper zu erkennen. Die Differenzen der Reaktion im Vergleich zu einer einmaligen Injektion von 50 I.E. HCG sind signifikant.

+) Die neg. Reaktion dürfte hier mit einem technischen Fehler zusammenhängen, da ausgedehnte Zirkulationsstörungen vorhanden waren, die das Zustandekommen wahrscheinlich verhindert haben.

Biologischer Nachweis eines luteotrophen Effektes einer einmaligen Applikation von HCG, kombiniert mit LTH

Tiere Kaninchen Nr.	Maus Nr.	Vorbehandlung HCG	LTH	Hooker-Forbes-Aktivität
	1	50 I.E.	5o I.E.	negativ
1	2	50 I.E.	50 I.E.	positiv
	3	50 I.E.	50 I.E.	zweifelhaft
	1	50 I.E.	50 I.E.	positiv
2	2	50 I.E.	50 I.E.	positiv
	3	50 I.E.	50 I.E.	zweifelhaft
	1	50 I.E.	50 I.E.	negativ
3	2	50 I.E.	50 I.E.	zweifelhaft
	3	50 I.E.	50 I.E.	zweifelhaft
	1	50 I.E.	50 I.E.	positiv
4	2	50 I.E.	50 I.E.	positiv
	3	50 I.E.	50 I.E.	positiv
	1	50 I.E.	50 I.E.	positiv
5	2	50 I.E.	50 I.E.	positiv
	3	50 I.E.	50 I.E.	zweifelhaft
	1	50 I.E.	50 I.E.	positiv
6	2	50 I.E.	50 I.E.	negativ
	3	50 I.E.	50 I.E.	positiv

Tab. 14

Eine kombinierte Behandlung mit HCG und LTH scheint die Funktionstüchtigkeit des Corpus luteum anzuregen. Nach den Ergebnissen dieser Tabelle darf eine Sekretion von Gelbkörperhormon angenommen werden. Eine längere Applikation von HCG ist nicht erforderlich, wenn dafür der hypophysäre Wirkstoff LTH gegeben wird.

Mammogene bei hypophysektomierten und ovarektomierten Ratten

(Nach den Ergebnissen experimenteller Untersuchungen von Lyons, Li u. Mitarb. 1950 - 1955)
Frei übersetzt und sachlich ergänzt.

Behandlung	Ergebnisse	Bemerkungen
1. Östrogene	Unverändert fortschreitende Atrophie der Brustdrüse.	Es fehlen die hypophysären, mammotropen Wirkstoffe.
2. Östrogene + Progesteron	Unverändert fortschreitende Atrophie der Brustdrüse.	Es fehlen die hypophysären Wirk-Stoffe, die mammotrope Effekte haben.
3. Gereinigtes LTH	Die Rückbildung ist verzögert. Kein Wachstumsreiz auf die Brustdrüse.	Es fehlt an der Stimulation durch die Ovarialhormone Östrg/Progest.
4. Gereinigtes LTH + Östrogene	Verzögerte Rückbildung, kein Wachstumsreiz.	Es fehlt der synergistische Effekt des Progesterons, da kein Ovar vorh.
5. Östrogene + Progesteron + gereinigtes LTH	Kräftiger Wachstumsreiz auf die Brustdrüse (++). Aufbau einer mittleren Gravidität entsprechend.	Zur vollen Lactogenese u. Lactopoese wäre die Unterstützung durch NNR-Hormone erforderlich.
6. Östrogene + Progesteron + LTH in verunreinigter Form	Mammogenese (+++). Aufbau der vollen Schwangerschaft entsprechend. Lactogenese +/-.	Pos. Ergebnis, da nicht hochgereinigtes LTH Spuren von ACTH u.STH enthält.
7. Östrogene + Progesteron + gereinigtes LTH+STH+ACTH	Volle Schwangerschaftsentwicklung der Mamma. Lactogenese (++).	Normale Lactogenese, hochgereinigtes LTH, STH+ACTH bewirken Verhältnisse, wie sie unter physiologischen Verhältnissen vorkommen.

+++ = stark positiv
++ = positiv
+ = schwach positiv
+/- = zweifelhaft

Tab. 15

Mammogenese bei hypophysektomierten und ovarektomierten Ratten

Behandlung	Ergebnis	Bemerkungen
1. HCG 50 I.E. HCG tgl. insgesamt für 5 Tage.	Keine Reaktion am Epithel der Brustdrüse festzustellen. Status wie bei unbehandelten Kontrollen.	Es fehlen die Ovarialhormone, Östrogene, Progesteron sowie das hypophysäre LTH.
2. HCG 50 I.E. HCG tgl. insgesamt für 5 Tage. Zusätzlich: 0,001 mg Östradiolbenzoat + 0,1 mg Progesteron für insgesamt 7 Tage.	Kein Einfluß auf den geweblichen Aufbau der Brustdrüse festzustellen. Status wie bei unbehandlten Kontrollen.	Die Ovarialhormone sind ohne Effekt, da die Hypophyse fehlt. HCG auch in Kombination mit Ovarialhormonen unwirksam.

Tab. 16

Mammogenese bei ovarektomierten Tieren
mit intakter Hypophyse

Behandlung	Ergebnis	Bemerkungen
50 I.E. HCG tgl. insgesamt für 5 Tage. Zusätzlich: 0,001 mg Östradiolbenzoat + 0,1 mg Progesteron für insgesamt 7 Tage.	Die Epithelien der Brustdrüse zeigen eine deutliche Proliferation. Vermehrung der Drüsenläppchen.	Aufbau durch die Ovarialhormone angeregt. HCG fördert zusätzlich die Produktion von LTH in der intakten Hypophyse.

Tab. 17

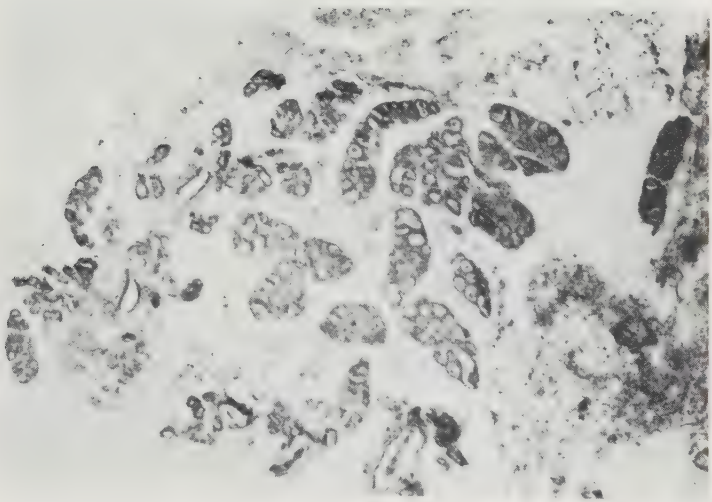


Abb. 38

Histologischer Schnitt durch die Brustdrüse der Ratte. Vorbehandlung mit Östrogenen und LTH. Man erkennt die starke drüsige Proliferation, die zur Ausbildung zahlreicher Drüsenläppchen geführt hat. Auffallend im Vergleich zu den vorhergehenden Bildern findet sich hier keine wesentliche Beteiligung der Drüsenausführungsgänge. Die Tiere dieses Versuches waren hypophysektomiert. Der hypophysäre Wirkstoff LTH wurde substituiert.

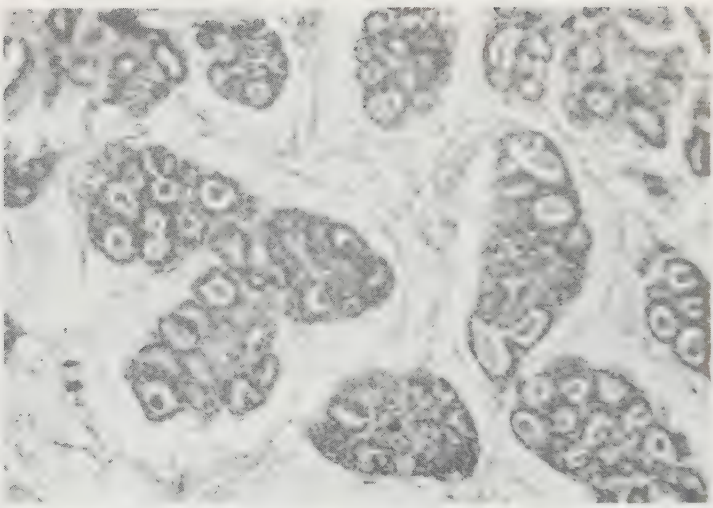


Abb. 39

Ausschnittsvergrößerung aus Abb. 38.
Die sehr kräftige Epithelentwicklung ist hier besser zu erkennen. In den Lumina findet sich Sekret. Die Drüsen sind vereinzelt etwas aufgestaut. Im rechten unteren Bildwinkel ist ein Drüsenausführungsgang angeschnitten.
Behandlung mit Östrogenen, Progesteron und LTH. Die Tiere waren hypophysektomiert.

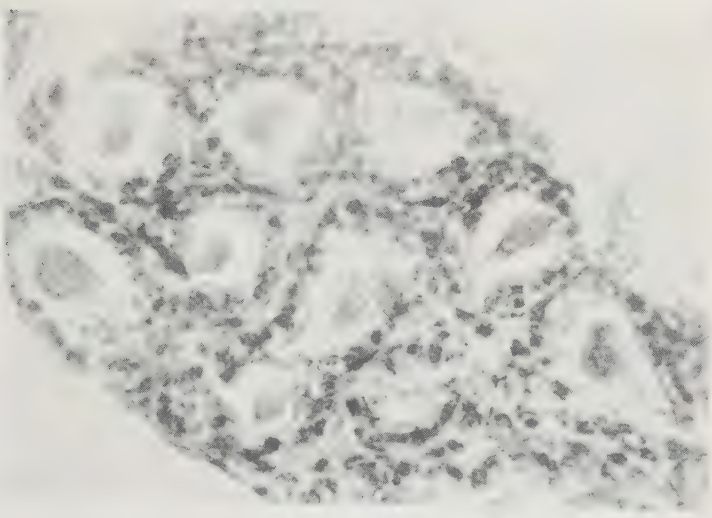
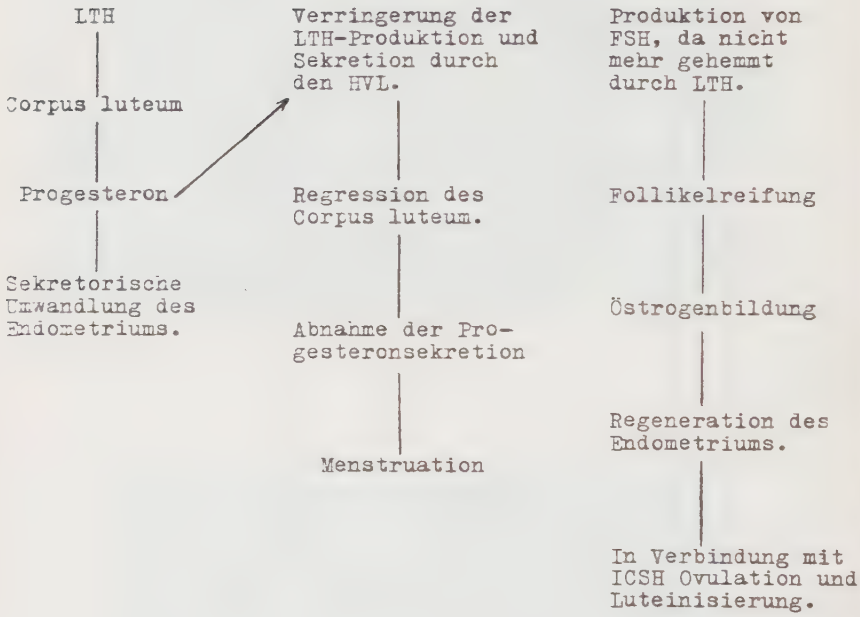


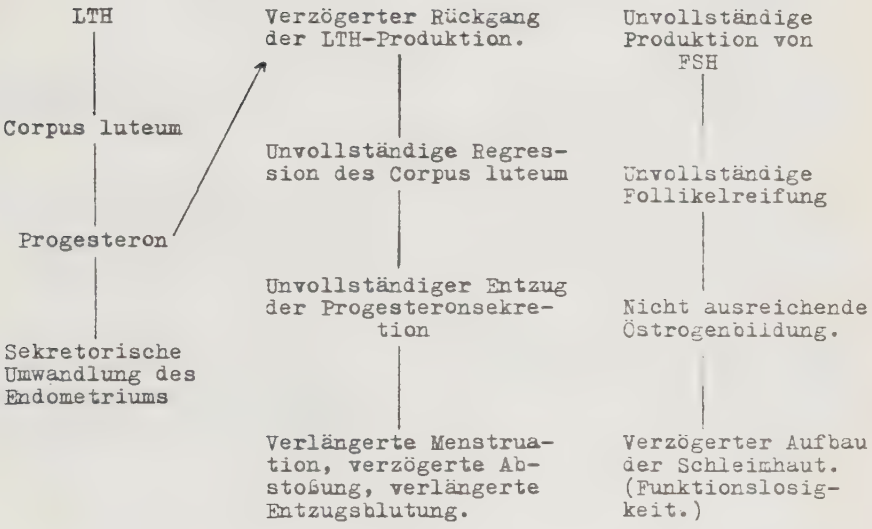
Abb. 40

Ausschnittsvergrößerung aus Abb. 39.
Die starke Proliferation der Drüsenepithelien ist hier zu erkennen. Die Epithelien stehen in voller Funktion und scheinen zu sezernieren. Die Zellbegrenzungen zum Drüsenlumen sind verwaschen und z.T. ganz aufgehoben. Man erkennt stellenweise die Sekretabsonderung der Zellen in das Lumen hinein. Die Bilder entsprechen dem Zustand der beginnenden Lactation.

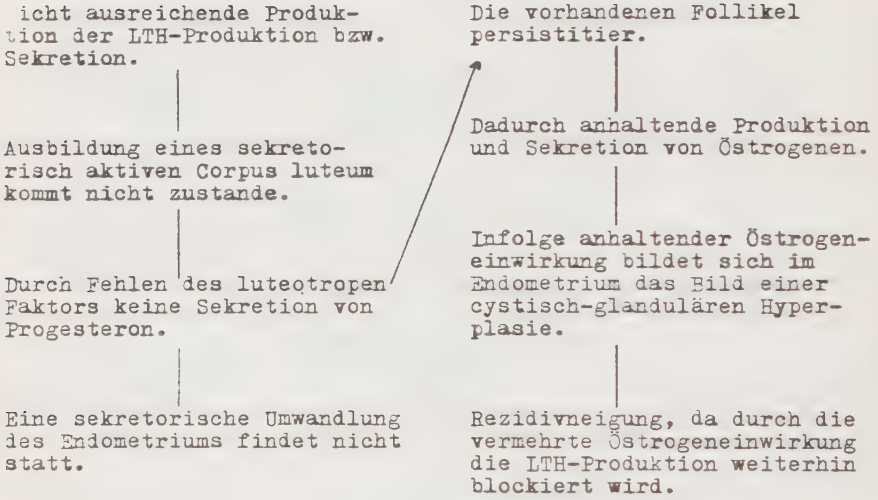
a) Funktionsablauf innerhalb des normalen Cyklus



b) Pathologische Cyklusform durch verzögerte Abnahme der LTH-Produktion.



c) Pathologische Verlaufsform des Cyklus durch nicht ausreichende LTH-Produktion



Therapie:

Zur Behandlung der unter b) dargestellten Veränderungen kommt die Zufuhr von Östrogenen in Betracht, da diese bei genügend hoher Dosierung eine Blockierung der LTH-Produktion bewirken.

Zur Behandlung der Veränderungen unter c) kommt eine Applikation von LTH bzw. HCG oder die Kombination beider Substanzen in Betracht.

Es ist bekannt, daß diese Therapie bei den genannten pathologischen Cyklusformen mit Erfolg angewendet wird.